

Aus dem Institut für Obstbau
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktor: Prof. W. Gruppe

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN
ZUR WACHSTUMS- UND ENTWICKLUNGSPHYSIOLOGIE
VON MALUS-UNTERLAGEN
(*Malus sylvestris* Mill.)

DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
bei der Landwirtschaftlichen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

eingereicht von
Diplomlandwirt Ernesto Saavedra O.
aus Santiago/Chile

Gießen 1971



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Obstbau
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktor: Prof. W. Gruppe

**EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN
ZUR WACHSTUMS- UND ENTWICKLUNGSPHYSIOLOGIE
VON MALUS-UNTERLAGEN
(Malus sylvestris Mill.)**

DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
bei der Landwirtschaftlichen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

eingereicht von
Diplomlandwirt Ernesto Saavedra O.
aus Santiago/Chile

Gießen 1971



Dekan: Prof. Dr. R. Waßmuth

1. Berichterstatter: Prof. Dr. W. Gruppe

2. Berichterstatter: Prof. Dr. H. Linser

Nebenfach: Botanik: Prof. H. Schraudolf

Tag der mündlichen Prüfung: 8. Juni 1971

Meinem Lehrer, Professor Werner Gruppe, verdanke ich die ersten Hinweise auf die Probleme, die den Gegenstand meiner Untersuchung bilden, und für sein stetes Interesse am Fortgang meiner Arbeit.

Professor Walter Feucht hat mir oft Gelegenheit gegeben, die praktischen und theoretischen Probleme bei der Durchführung meiner Arbeit mit ihm zu diskutieren. Ihm möchte ich ganz besonders danken für seine Geduld und Freundlichkeit und für viele wichtige Hinweise und Ratschläge. Auch Priv.-Doz. Karl-Heinz Neumann vom Institut für Pflanzenernährung danke ich für zahlreiche Anregungen und für praktische Unterstützung bei einigen Versuchen.

Für wertvolle Hinweise danke ich auch Professor Helmut Schraudolf vom Botanisches Institut und Dr. Hanna Schmidt vom Institut für Obstbau.

Allen Angehörigen des Instituts für Obstbau möchte ich aber auch an dieser Stelle für ihre ständige Hilfsbereitschaft und für viele Freundlichkeiten danken.

Zu besonderem Dank bin ich dem DAAD verpflichtet, der mir durch ein mehrjähriges Stipendium die Durchführung dieser Arbeit ermöglichte.

Schließlich danke ich meiner Frau, die alle Unbequemlichkeiten auf sich genommen hat, die diese Arbeit mit sich gebracht hat. Sie hat mit Verständnis und Geduld meine ganze Arbeit begleitet und toleriert, daß mich die zeitraubenden Versuchsreihen oft und lang im Institut festhielten. Sie hat auch das Manuskript geschrieben, und ohne ihre Hilfe hätte ich das ganze Projekt nicht verwirklichen können.

Inhaltsverzeichnis

Seite

1

I. EINLEITUNG

II. DAS WACHSTUMSVERHALTEN DER UNTERLAGENTYPEN AM UNTERSUCHUNGSSTANDORT

4

III. ANATOMIE UND HISTOCHEMIE

1.	Literaturübersicht	7
2.	Material und Methode	11
2.1.	Wuchsstoffbehandlungen	11
2.2.	Beginn der Lignifizierung	12
2.3.	Ringokulation	12
2.4.	Stärke, Phosphorylase und Phosphatase	12
3.	Ergebnisse	13
3.1.	Wuchsstoffbehandlung im Freiland	13
3.2.	Wuchsstoffbehandlung in vitro	19
3.3.	Beginn der Lignifizierung	23
3.4.	Ringokulation	25
3.5.	Stärke	27
3.6.	Phosphorylase	28
3.7.	Phosphatase	29
3.8.	Die Markstruktur	29
4.	Diskussion	34

IV. BIOCHEMISCHE BESTIMMUNGEN

1.	Literaturübersicht	40
2.	Material und Methode	44
2.1.	Lignin Bestimmung	44
2.2.	Stickstoff Bestimmung	44
2.3.	Peroxydase und saure Phosphatase Aktivität	46
2.4.	Phenole	46
2.5.	Fraktionierung der Ca-Formen	47

3.	Ergebnisse	48
3.1.	Klason Lignin	48
3.2.	Stickstoff	49
3.3.	Peroxydase und saure Phosphatase-Aktivität	53
3.4.	Phenole	54
3.5.	Trennung der Ca-Fractionen	59
4.	Diskussion	60

V. GEWEBE- UND INTERNODIENKULTUR

1.	Literaturübersicht	65
2.	Material und Methode	68
2.1.	Gewebekultur	68
2.2.	Internodienkultur	69
3.	Ergebnisse	70
3.1.	Gewebekultur	70
3.1.1.	Wirkung des physikalischen Milieus	70
3.1.2.	Wirkung von Auxin und Cytokinin auf das Frischgewicht der Explantate	73
3.1.3.	Wirkung von Auxin und Cytokinin auf das Trockengewicht der Explantate	75
3.1.4.	Einfluß von der NAA- und BA-Konzentration auf die Teilungsaktivität	77
3.1.5.	Einfluß der NAA- und BA-Konzentration auf die Organogenese der Explantate	78
3.1.6.	Einfluß von m-Inosit und anderen Vitaminen auf das Wachstum und die Organogenese von Explantaten	79
3.1.7.	Jahreszeitliche Wachstumsschwankung von Explantaten	80
3.1.8.	Wirkung der Nährstoffe auf das Wachstum von Explantaten.	81
3.1.9.	Anatomischen Untersuchungen von Adventivwurzeln aus Kallus	83
3.1.10.	Anatomische Untersuchungen von Kallusgewebe	89
3.1.11.	Stärkegehalt von Kallusgewebe verschiedener Unterlagen	92

3.2.	Internodienkultur	94
3.2.1.	Streckungswachstum	94
3.2.2.	Kallusbildung aus den Internodien	96
3.2.3.	Effekt des Hormons auf die Streckung der Internodien	97
4.	Diskussion	99
VI.	GESAMTDISKUSSION	107
VII.	ZUSAMMENFASSUNG	112
VIII.	LITERATURVERZEICHNIS	115

I. EINLEITUNG

Dichtpflanzungen von Apfelbäumen auf schwachwachsenden Unterlagen führen zu einem frühen Ertragsbeginn, hohen Flächenerträgen, geringerer Erntearbeit, usw. (PRESTON, 1958 a,b; 1959 c; MAURER u. HILKENBÄUMER 1954, HILKENBÄUMER u. ENGEL 1969, GRUPPE 1967).

Schon Theophrastus erwähnt die Existenz von Zwergobstbäumen im 3. Jahrhundert vor Christus. Auch die römischen Landwirte waren vertraut mit diesen Bäumen und benutzten sie in Gärten. Seit etwa 150 Jahren werden Bäume von schwacher Entwicklung in wirtschaftlich genützten Obstgärten in Europa gepflanzt. Nach ihrer vegetativen Vermehrung dienen sie als Unterlage, um die Baumgröße zu kontrollieren (TUKEY, 1964).

Aber der Beginn einer systematischen und wissenschaftlichen Unterlagenzüchtung wird etwa auf das Jahre 1912 angesetzt (DE HAAS u. HILDEBRANDT, 1967).

Man hat heute bei Äpfeln eine große Unterlagenzahl verschiedener Wuchsstärke und Frühreife als Hauptmerkmale. (TYDEMAN, 1953; ROGERS, 1958; PRESTON, 1959 a,b). Trotzdem ist es notwendig, neue Unterlagensorten finden, die bessere Widerstandsfähigkeit der Bäume gegen Krankheiten, Nematoden, Frost, Trockenheit und andere Merkmale haben.

Die Züchtung im Obstbau ist wegen ihrer langen ertraglosen Jugendphase jedoch sehr langwierig. Außerdem kann man in den ersten Jahren die Wuchsstärke eines Baumes nicht erkennen.

Auch haben die Bäume einen sehr großen Raumbedarf bis Zuchterfolge sichtbar werden.

Diese beiden Merkmale, lange Wartezeit und große Fläche, und die Chance, 1:100 bis 1:1000 nach einer Kreuzung wertvolle Sämlingspflanzen zu finden, ergibt eine sehr teure Züchtungsarbeit (NYBOM, 1962).

Es ist daher sehr naheliegend, mittels Frühselektionsmethoden, die das nutzlose Zuchtmaterial von den nutzbaren Pflanzen so bald wie möglich zu trennen erlauben, diese Arbeit zu verbilligen und zu verkürzen.

Diese Methoden können Korrelationen zwischen morphologischen, anatomischen, biochemischen oder physiologischen Merkmalen der Pflanzen und der gewünschten Eigenschaften betreffen. Zum Beispiel berichten LOEWEL et al (1957), über solche Verfahren für Gewicht und Form der Früchte, SCHANDER (1958) für Mehлтаuresistenz, NYBOM (1962) für Fruchtfarbe, pH-Wert der Frucht und Winterhärte.

Es sind zahlreiche und wertvolle Arbeiten durchgeführt worden, um die Wachstumkontrolle und die Unterlagen-Reis Beziehungen aufzuklären. Trotzdem ist die Physiologie und Biochemie dieser Prozesse noch nicht geklärt (ROGERS u. BEAKBANE, 1957).

Das Ziel dieser Arbeit war deshalb in erster Linie, neue Informationen und Korrelationen über anatomische, physiologische oder biochemische Merkmale zur Starkwüchsigkeit von Malustypen zu finden.

Für diese Zwecke wurde die folgende Arbeit in 3 Teile getrennt. Der erste Abschnitt befaßt sich mit der Anatomie und Histochemie. Experimentell wurden Wuchsstoffapplikationen in situ und in vitro sowie Ringokulationen durchgeführt. Damit sollten typische Wuchsreaktionen bei den verschiedenen Typen induziert werden, die Aufschluß über das Wachstumspotential derselben erbringen können.

Im zweiten Teil sind analytische Ergebnisse dargestellt, von einigen Stoffen die gemäß der Literatur bei den Wachstums- und Entwicklungsvorgängen eine wesentliche Rolle spielen.

Das letzte Drittel der Arbeit beschäftigt sich mit Behandlungen in vitro an einzelnen Organen oder Geweben unter kontrollierten Bedingungen, denn auf diese Weise könnten die Wachstumspotentiale der Malustypen zu erkennen sein. Außerdem, würde eine geringere Streuung in den Reaktionen

zu erwarten sein als in den Versuchen im Freiland.

Diese Arbeit wurde wegen der Verfügbarkeit einer bekannten Unterlagenreihe verschiedener Wuchsstärke mit Malus-typen geplant, aber sie sollte prinzipielle Daten für die Züchtung von schwachwachsenden Unterlagen auch bei andere Obstarten erbringen.

II. DAS WACHSTUMSVERHALTEN DER UNTERLAGENTYPEN AM UNTERSUCHUNGSSTANDORT

Man findet in der Literatur überaus zahlreiche Arbeiten über Leistung, Verhalten und Merkmale verschiedener Unterlagen und ihrer Beziehungen mit Edelsorten. Über ihren Inhalt auch nur kurz zu referieren würde den hier gesetzten Rahmen bei weitem überschreiten.

Trotz der vielen Publikationen ist es nicht möglich, eine genaue Reihe für die Wuchsstärke der untersuchten Typen ^{a)} aufzustellen, da das Wachstum bei M IV und M II je nach Standort, Alter und Wuchsstärke der darauf veredelten Sorte variiert.

Unveredelte Bäume verhalten sich außerdem verschieden. Ein zudem stark beeinflussender Faktor für die endgültige Baumgröße ist die Länge der ertraglosen Zeit.

TYDEMAN (1955) gibt eine Beschreibung von Wuchsmerkmalen der Malling-Apfelunterlagen (Tab.1)

Tabelle 1

Einige Merkmale des benutzten Materials (aus TYDEMAN 1955)

	Internodien- länge (mm)	Durchmesser Zweige	Blatt- größe	Blatt- dicke	Austrieb	Blatt- fall
M IX	24	4,9	mittel bis groß	ziem- lich dick	früh	früh- mittel
M IV	21	5,2	ziem- lich klein	dick	früh	früh
M II	19	6,5	mittel	-	früh	früh
M XI	24	5,8	mittel	dick	mittel	spät

^{a)} Unter Typ versteht man eine "Vielzahl von Individuen, die durch Übereinstimmung in wesentlichen Merkmalen gekennzeichnet sind, ohne daß die Merkmale so scharf abzugrenzen wären wie bei den Begriffen der Art oder Varietät" (DE HAAS u. HIL-DEBRANDT, 1967),

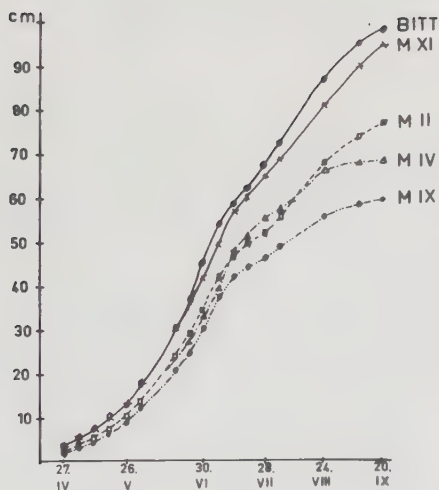


Abb. 1: Graphische Darstellung der Zuwachswerte des Längenwachstums einjähriger Triebe.

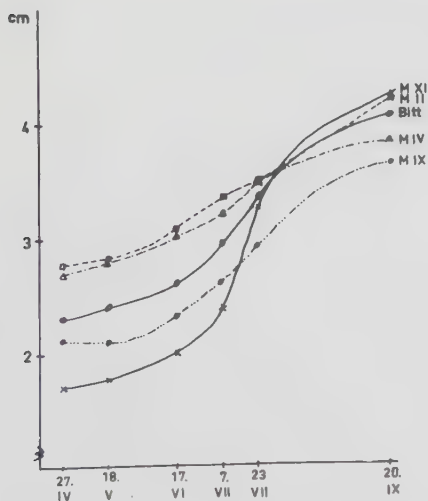


Abb. 2: Graphische Darstellung der Zuwachswerte des Stammumfangs in einer Höhe von 20 cm.

Eigene Untersuchungen über das Wuchsverhalten der Typen sollten mehr Sicherheit für die anzustellenden Experimente erbringen.

Dafür wurden in der ersten Periode bis Juni 5 Bäume und später 25 Bäume pro Unterlage gewählt. Die Pflanzen (M IX + M II - M IV - MXI und der Sämling Bittenfelder) wurden auf 3 Triebe standarisiert und das Längenwachstum und der Stammumfang wöchentlich gemessen. Die Ergebnisse sind graphisch dargestellt.

Die Messungen wurden nur im ersten Jahr nach der Pflanzung gemacht. Verschiedene Behandlungen haben später eine Standardisierung erschwert und das Material begrenzt, was es unmöglich machte weiterzumessen.

Die Abb.1 zeigt, daß es in der ersten Hälfte der Vegetationsperiode (bis Mitte Juli) kaum einen Unterschied in der Wachstumsrate gibt, daß der Hauptunterschied durch verschiedenen Abschluß des Längenwachstums verursacht ist, und daß die Pflanzen in der folgenden Reihe einzuordnen sind:

Bittenfelder > M XI > M II > M IV > M IX

Diese Reihe läßt sich auch in den weiteren 2 Untersuchungsjahren deutlich beobachten.

Der Stammumfang der Pflanzen ist im ersten Jahr nicht mit der Länge des Wachstums proportional. Das ist durch den verschiedenen Zustand der Baumschulware verursacht. Trotzdem, ergibt sich eine stärkere Normalisierung bei M XI und Bittenfelder während der Vegetationsperiode. Am Anfang hatte M XI den kleinsten Durchmesser und am Ende den höchsten, aber nicht mit signifikanter Differenz zu M II und Bittenfelder. Bei dem Sämling war diese Steigerung des Stammumfangs nicht so stark, aber doch deutlicher als die anderen 3 Unterlagen. Auch M II zeigt am Ende ein größeres Dickenwachstum als Bittenfelder. Dieses Verhalten läßt erkennen, daß in den folgenden Jahren auch bei diesem Parameter die Reihe

Bittenfelder > M XI > M II > M IV > M IX

als Konsequenz der Kronengröße entsteht.

III. ANATOMIE UND HISTOCHEMIE

1. Literaturübersicht

Es ist schon bekannt, daß die Baumgröße und Fröhreife von Malus-Unterlagen Typen verschiedener Wuchsstärke mit dem Rinde/Holz-Verhältnis, dem Flächenanteil an lebendem Gewebe und der Anzahl der Marksstrahlen korreliert ist. So fand BEAKBANE (1941) große Unterschiede in der Proportion an Zellen die eine höhere Fähigkeit, Kohlenstoffe einzulagern, haben, zwischen M IX und M XII. In einem Querschnitt von Wurzeln, zeigt M IX 81% der Oberfläche mit lebendigem Gewebe, M II hat 64% und M XII 50%.

MOSSE (1952) findet, daß auf starkwachsenden Unterlagen eine große Entwicklung der Bastfässern bei den Sprossen der Edelsorte charakteristisch ist. Der Prozentgehalt an Rinde bei den Sprossen ist größer, wenn sie auf Zwergunterlagen veredelt sind als auf normalen Unterlagen, und es berichten RAO u. BERRY (1940) über ein höheres Rinde/Holz-Verhältnis in den Sprossen von M IX als bei M XII. Aber MOSSE findet keine Unterschiede im ersten Jahr des Wachstums.

Das Tracheenlumen ist größer in Wurzeln stärkerer Unterlagen als in schwachen Bäumen (BEAKBANE u. THOMPSON 1939).

Schwachwachsende Bäume bilden einen hohen Prozentsatz an Rinde in den Wurzeln, dieses Merkmal nimmt mit der Zunahme des Wachstums ab (BEAKBANE 1941; 1956; BEAKBANE u. THOMPSON 1945).

Dieser anatomische Charakter wird heute in England als Frühselektionsmethode auf Wuchsstärke angewandt.

BUSCH u. WINKLER (1961) berichten, daß die Lage der Wurzeln im Boden einen signifikanten Einfluß auf das Rinde/Holz-Verhältnis hat, und daß sich der Einfluß der Entnahmestelle bei den einjährigen Apfelsämlingen noch deutlicher zeigt. Trotzdem folgern auch sie, daß bei unbekannten Unterlagentypen schon im Alter von drei Jahren, auf Grund der anatomischen Struktur der Wurzeln auf ihre zukünftige

Wuchsleistung gruppiert werden könne.

FISCHER (1970) befaßt sich noch mit diesem Problem und berichtet, daß in 2-3 jährigen Pflanzen eine gewisse Unsicherheit zwischen dem Holzflächenanteil im Wurzelquerschnitt und der Wuchsstärke gegeben ist. Gründe dafür sind:

- a) große Streuung der Einzelwerte
- b) geringe Anzahl der zur Verfügung stehenden Pflanzen zum Beginn der Selektion
- c) Schwierigkeit beim Auffinden von völlig einheitlichem Ausgangsmaterial bei der Probeentnahme
- d) geringer Durchmesser der in dieser Entwicklungsphase vorhandenen Wurzeln.

Da die Entnahme des Untersuchungsmaterials bei Zweigen einfacher als bei Wurzeln wäre, wurden durch BUSCH u. WINKLER (1961) die entsprechenden Messungen in Zweigen durchgeführt, und sie fanden eine gewisse Tendenz zu einer Korrelation zwischen dem Holzanteil und der Wuchsstärke, jedoch der Korrelationskoeffizient zeigte, daß diese nicht gesichert war. Der Unterschied, der von ihnen gefunden wurde, ist so gering (M IX 59,78 %- DAb 81 64,61% Holzanteil) daß daraus Schlußfolgerungen für eine Wuchsstärkengruppierung nicht gezogen werden können.

Das sekundäre Dickenwachstum in den Bäumen, d.h. die Neubildung der Rinde (Bast) und des Holzkörpers erfolgt mittels des Kambiums.

Die Teilungsgeschwindigkeit, der Differenzierungsvorgang, und die zyklische Aktivität des Kambiums wird durch ein kompliziertes und balanciertes System gesteuert. Eine vorwiegende Rolle haben die Wuchshormone (Auxine, Cytokinine und Gibberelline), und die Hemmstoffe (LARSON 1962; WAREING 1958; DIGBY u. WAREING 1966; WAREING et al 1964; PIENAZEK u. SANIENSKI 1968, 1970; CASPERSON 1968).

Die Stoffgruppe der Phenole spielt eine wichtige Rolle in der Regulierung des Wachstums. VARGA u. FERENCZY (zit.von KEFELI 1968) beweisen, daß der von KEFFORD genannte B-Komplex, aus einer Reihe von Phenolen, größtenteils saueren

Phenolen besteht.

HANCOCK, BARLOW u. LACEY (1961) berichten, daß das Phenol Phloridzin das Streckungswachstum hemmt.

Phloridzin ist mengenmäßig das Hauptphenol in *Malus sylvestris* Mill. Seine Konzentration erreicht bis zu 14% des Trockengewichts (MARTIN u. WILLIAMS 1964; EATON 1949) und es wirkt nach SARAPUU (1965), SARAPUU u. VARD'JA (1966) hemmend.

Die Sproßorganisation ist auch eine Funktion des oberen Teils des Apicalmeristems (SACHS, 1965).

GRISEBACH in 1843 und HARTING in 1845 (zit. von SACHS 1965) fanden, daß die meisten Zellen eines sich streckenden Sprosses, bei einer relativen großen Entfernung unter dem Eumeristem, durch Mark-, Rinden- und Leitgewebe gebildet werden.

So hat HARTING in *Tilia* gefunden, daß neue Zellen bis einer Entfernung von 10 cm unter der Spitze durch Transversalteilungen gebildet werden. In diesen 10 cm ist die Vergrößerung der Zelle nur doppelt, trotzdem ist die Zellzahl zehnmal höher. Er hat außerdem gefunden, daß die Histogenese verschiedener Gewebe im Sproß nicht gleich verläuft, und ist der Meinung, daß dem Subapicalmeristem eine große Rolle in der Bestimmung der Gesamthöhe einer Pflanze zukommt.

Hohe Tomatensorten besitzen ein größeres und aktiveres Meristem als kleinere Sorten (SACHS, 1965).

HOLMSEN (1960) findet wegen einer geringeren Aktivität des Markmeristems weniger Zellen in Internodien von Pfirsich-Zwergpflanzen als in normalen.

Die Sproßverlängerung ist mit anderen Vorgängen des Wachstums und der Entwicklung integriert. Zum Beispiel erfolgt die Gefäß- und Tracheidbildung gleichzeitig in der Streckungszone eines Zweiges aber die Koordinierung beider Prozesse ist begrenzt (SACHS 1965).

Die bereits genannten Auxine, Cytokinine, Gibberelline und Phenole, können entweder das Wachstum oder die Entwicklung der Leitbündel und die Lignifizierung beeinflussen (GAUTHERET; PARUP; KOBLITZ; zit. von BROWN 1966; BERGMANN

1964; KOBLITZ, 1964; FRIES, 1968; BROWN, 1964).

Auf Grund der genannten Tatsachen, wurden weitere anatomische Untersuchungen in der Streckungszone durchgeführt, um zu studieren, wie die Entwicklung und die Reife des Sprosses in Abhängigkeit des Abstands vom Vegetationspunkt verläuft.

Auf Grund der beschriebenen Literatur erschienen folgende zusätzliche Studien sinnvoll:

a) Es sollte untersucht werden, ob sich die verschiedenen wüchsigen Unterlagen durch eine typische Reaktion auf Wachstumsstimulatoren - und - komponenten auszeichnen. Darum wurden Applikationen mit solchen Stoffen vorgenommen (siehe 3.1.; 3.2.)

b) Da die Lignifizierung die Endphase der Zellreife einleitet und die Zellreife ihrerseits mit dem Wachstumsabschluß gekoppelt ist, lag es nahe, zu prüfen, ob sich die Typen im Beginn der Verholzung unterscheiden. Dies wird bei M IX und M XI geprüft (siehe 3.3.)

c) Die Stärkebildung ist bekanntlich ein Charakteristikum bestimmter reifender Zellen, die ihre Wachstumsphase durchlaufen haben. Sowohl die Phosphatase als auch die Phosphorylase sind mit dem Stärkestoffwechsel verbunden. Darum wurden die 3 Komponenten an Querschnitten der Typen untersucht, um evtl. Hinweise zur Wüchsigkeit zu erhalten (siehe 3.5; 3.6.; 3.7.)

d) Nicht nur Rinde und Xylem der Sproßspitze durchlaufen eine Wachstums- und Differenzierungsphase (b und c) sondern auch das Mark. Darum wurde es im aufgezeigten Sinne bei den Typen ebenfalls untersucht (siehe 3.8.)

e) Es wurden außerdem Rinden-Zwischenveredlungen durchgeführt, um den Einfluß endogener Faktoren eines Types auf bestimmte Wuchsmerkmale eines anderen zu analysieren.

2. Material und Methode

2.1. Wuchsstoffbehandlungen:

Etwa 15 cm von der Spitze entfernt wurden im Juni 5 senkrechte Triebe pro Behandlung dekapitiert, und mit Wuchsstoffen in Lanolin alle 3-4 Tage periodisch behandelt.

Vor jeder neuen Applikation wurden die Wundstellen oberflächlich geschnitten.

Die folgende Wuchsstoffbehandlungen wurden innerhalb 25 Tage gemacht:

- a) Kontrolle
- b) IES 500 ppm + GA 100 ppm
- c) IES 300 ppm + GA 300 ppm
- d) IES 100 ppm + GA 500 ppm
- e) 1,5% Phloridzin
- f) 3 % Phloridzin
- g) 6 %_v Phloridzin

Im zweiten Untersuchungsjahr wurden 5 Sprosse pro Behandlung vor dem Austrieb von den Pflanzen getrennt, entknospet und mit ihrer Basis ins Wasser gelegt (WAREING 1958).

Gleichdicke und 20 cm lange Stücke aus der Mitte eines Sprosses wurden im Labor frisch gehalten.

In diesem Fall wurden die folgenden Behandlungen gemacht:

- a) Kontrolle
- b) IES 500 ppm + GA 100 ppm
- c) IES 300 ppm + GA 300 ppm
- d) IES 100 ppm + GA 500 ppm
- e) IES 100 ppm
- f) GA 100 ppm

In den beiden Versuchen wurde das Material in Athanol/Formalin/Essigsäure (20:1:1) fixiert, und Querschnitten 0,5 cm unter der letzten Applikationsstelle gemacht.

Im ersten Versuchsjahr wurden Querschnitte von 50 μ Dicke in eine Kryostat Leitz bei -7°C vorbereitet, im zweiten dagegen wurden sie mit Holzmikrotom bei 40 μ hergestellt.

Zur Färbung der Schnitte wurden Lichtgrün und Safranin, die eine gute Differenzierung für Kerne, verholzte Zellwände, Zellulosewände und Cytoplasma geben, nach einem Verfahren aus East Malling angewandt.

2.2. Beginn der Lignifizierung

Transversalschnitte wurden in 5 schnellwachsenden Sprossen (Juni) von den Typen M XI und M IX bei 2-5 und 10 cm Abstand von der Vegetationspunkt vorbereitet. Die 40 μ dicken Schnitte wurden mit Phloroglucin-HCl nach Johansen-Siegel (JENSEN, 1962), deren Farbreaktion auf das Koniferylaldehyd zurückzuführen ist (KÜRSCHNER, 1966) und mit Lichtgrün-Safranin gefärbt.

2.3. Ringokulation

Einjährige Typen von M XI und M 26 (schwachwachsend) wurden im Frühling, kurz vor dem Austrieb veredelt. Dafür wurden 2 cm hohe Rindenzyylinder zwischen den Typen in allen Kombinationen umgetauscht (XI/XI/XI; XI/26/XI; 26/26/26; 26/XI/26). Pro Kombination standen 30 Pflanzen zur Verfügung.

Nach drei Wachstumszyklen wurden sie geschnitten und untersucht.

2.4. Stärke, Phosphorylase und Phosphatase

Im Juni wurden je 10 Schnitte (40 μ) mit 2-5-10-20 und 30 cm Abstand von der Spitze angefertigt und mit Jod-KI gefärbt, und zwar bei allen Versuchspartnern.

Der Phosphorylasetest wurde mit der Stärkemethode nach DYAR durchgeführt (JENSEN, 1962).

Die saure Phosphatasereaktion nach GOMORI wurde in Abänderung nach SAUTER (1966) bestimmt.

3. Ergebnisse

3.1. Wuchsstoffbehandlung im Freiland

a) Makroskopische Messungen.- In Hinsicht auf die makroskopische Struktur der Querschnitte von den wachsenden Trieben, die im Juni dekapitiert und behandelt wurden, ist der Effekt der Wuchsstoffe und des Phenols Phloridzin auf die Rinde (Kambialzone bis Epidermis) in den Tabellen 2 und 3 wiedergegeben.

Von den Behandlungen unabhängig, ist der Unterschied zwischen den Typen signifikant ($P < 0,1 \%$).

Der schwachwachsende M IX hat einen höheren prozentualen Anteil an Rinde als M XI. Das entspricht der in der Literatur angegebenen Tendenz (BUSCH u. WINKLER, 1961).

Die berechnete F-Wert für die Wechselwirkungen zwischen den Typen und Behandlungen ist (niedriger als der abgelesene F-Wert für $P < 5 \%$) nicht signifikant, d.h., beide Typen antworten einheitlich auf die Behandlungen.

Tabelle 2

Prozentsatz an Rinde in den behandelten Sprossen
(Mittelwerte von 5 Wiederholungen)

Behandlungen	Typen		Behandlungs- effekt ***
	M XI	M IX	
Kontrolle	52,5	54,9	53,7
IES 500	56,4	60,2	58,3
GA 100			
IES 300	53,2	56,6	54,9
GA 300			
IES 100	50,8	54,5	52,7
GA 500			
Phloridzin 1 %	57,3	56,1	56,7
Phloridzin 3 %	57,4	61,2	59,3
Phloridzin 6 %	57,6	60,1	58,9
Typ Effekt **	55,1	57,7	

Ein Effekt der Gibberellinsäure konnte bei der angewendeten Konzentration nicht gemessen werden. Jedoch wurde bei der höchsten Konzentration an IES ein gesicherter Einfluß zur Kontrolle ($P < 5\%$) deutlich.

Aber die höchste Wirkung hat sich bei der Phloridzin-Applikation erwiesen.

Tabelle 3

Differenzen zwischen Behandlungs-Mittelwerten und deren statistische Sicherheit nach dem multiple range-Test.^{a)}

	Phl 6%	IES 500 GA 100	Phl 1,5%	IES 300 GA 300	Kontroll- le	IES 100 GA 500
Phl 3%	0,4	1,0	2,6	<u>4,4</u>	<u>5,6</u>	<u>6,6</u>
Phl 6%		0,6	2,2	<u>4,0</u>	<u>5,2</u>	<u>6,2</u>
IES 500 GA 100			1,6	3,4	<u>4,6</u>	<u>5,6</u>
Phl 1,5%				1,8	3,0	<u>4,0</u>
IES 300 GA 300					1,2	2,2
Kontrolle						1,0

a) = $P < 0,1\%$; = $P < 1,0\%$; = $P < 5,0\%$

b) Mikroskopische Untersuchungen.- R i n d e n s t r u k t u r.- Der höhere Anteil an Rinde zwischen den Typen ist durch das Phloem und Rindenparenchym gegeben. Jedoch, der Effekt der Behandlungen ist zum größeren Teil durch ein Wachstum des Rindenparenchyms verursacht. Dieses Gewebe teilt sich aktiver und die Zellen zeigen mehr Streckungswachstum als die normalen Gewebe. Auf diese Weise bildet sich ein lockeres Gewebe (Abb.3 u.4).

Obwohl beide Unterlagen sich einheitlich verhalten, ist die Lignifizierung der Bastfasern sehr unterschiedlich. Es wurde für M IX eine strenge negative Korrelation zwischen dem Wachstum des Rindenparenchyms und der Lignifizierung der Bastfasern (Abb.5 u. 6) offensichtlich. Bei M XI, auch in extremen Fällen, wurde kein Unterschied in der Lignifizierung der Fasern zwischen den Kontrollen und den Behandlungen gefunden.

X y l e m s t r u k t u r .- In den meisten Präparaten wurde ein Wachstumsring erkennbar, der die Charakteristik eines Spätholzrings zeigt, d.h., "ein dichteres Gewebe mit kleineren Zellen und ohne Tracheen" (ESAU, 1965).

Auch dekapitierte Sprosse ohne Lanolin-Applikationen deren Knospen ausgetrieben waren, zeigten diesen Ring. Also hat die Entstehung dieses Ringes nichts mit den Wuchsstoff- und Phloridzinbehandlungen selbst zu tun sondern mit der Dekapitierung.

Nach LARSON (1962) darf man schließen, daß jeder Faktor der ein zeitliches Aufhören der Apikalaktivität bedingt und die Erneuerung des Apikalwachstums sowie eine hohe Auxinsynthese begünstigen, zu einer falschen Ringbildung führt.

Jedoch war der Lignifizierungsgrad der Ringe unterschiedlich. Alle Ringe der Kontrollen zeigten bei M IX kein Lignin und die Zellen enthalten Protoplasma; trotzdem war das Gewebe außerhalb dieses Rings bei einigen Sprossen völlig normal. Bei M XI jedoch war die Lignifizierung solcher Ringe besser als bei M IX.

Das während der Behandlung neu gebildete Xylem zeigt auch Zonen mit weniger Tracheen oder überhaupt keine, breitere Markstrahlen und viel parenchymatisches Gewebe. Auch das wurde in den Kontrollen beobachtet (Abb.7), jedoch in geringerem Grade (Tab.4).

Die stärkste Reaktion wurde bei der Behandlung IES 100 ppm plus GA 500 ppm und bei 3% Phloridzin induziert (Abb.8 u.9). Die parenchymatischen Zellen zeigen gelegentlich Ca-oxalat Kristalle, die typisch für das Parenchym eines

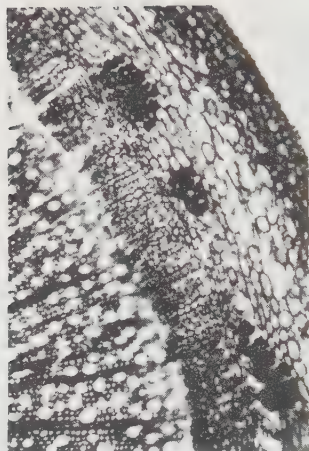


Abb.3: Rindenparenchym von
M XI bei der Kontrolle

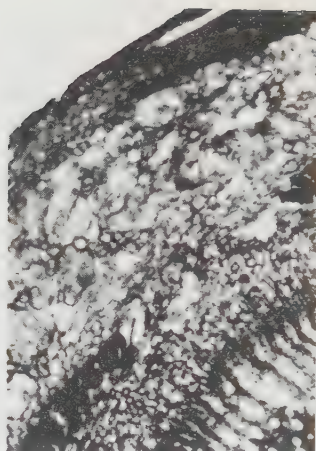


Abb.4: Rindenparenchym von
M XI bei IES 500 ppm +
GA 100 ppm



Abb.5: Bastfasern von M IX
bei der Kontrolle

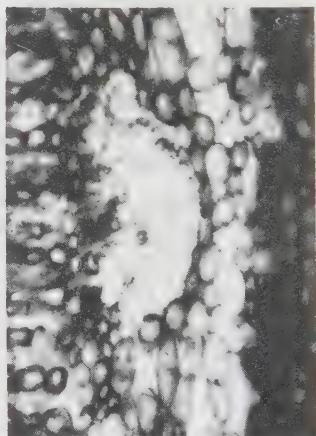


Abb.6: Bastfasern von M IX
bei IES 500 ppm + GA 100
ppm

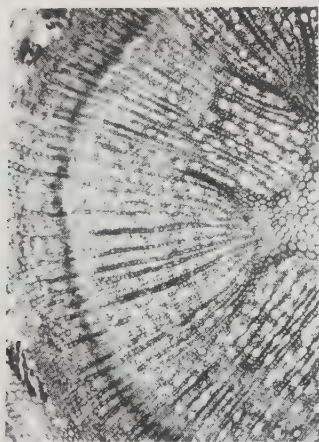


Abb.7: Querschnitt einer Kontrolle bei M IX

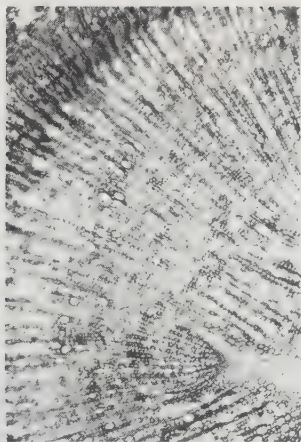


Abb.8: Effekt von IES 100 ppm + GA 500 ppm bei M IX

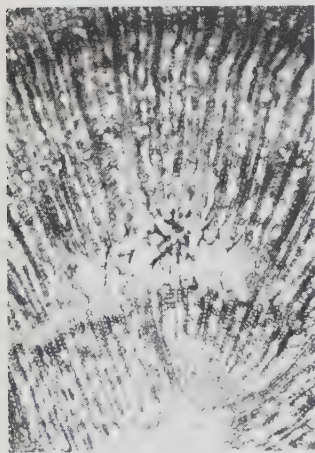


Abb.9: Starke Reaktion von M IX bei IES 100 ppm + GA 500 ppm

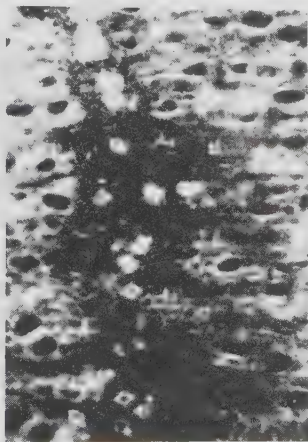


Abb.10: Ca-oxalat Kristalle im Xylem von M XI bei Phloridzin 3%

Sprosses sind und die sich nicht im normalen Xylem entwickeln (Abb.10). Die Xylem-Zellwände sind dünner als normal. Außerdem treten die Kristalle immer am stärksten auf der Seite des Blattbündels der obersten Lateral-Knospe auf.

Bei IES 500 ppm plus GA 100 ppm ergibt sich eine Tendenz zur normalen Lignifizierung des falschen Ringes (Abb. 11).

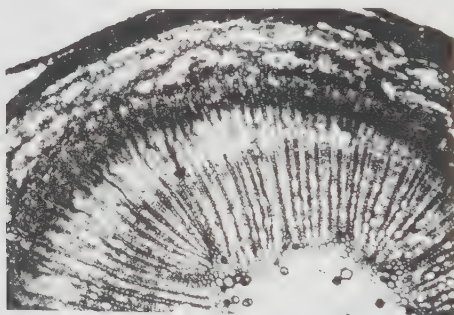


Abb.11: Lignifizierter Ring von M XI bei IES 500 ppm + GA 100 ppm

Tabelle 4

Xylemreaktion nach der Behandlung mit Wuchshormonen und Phloridzin. (parenchymatischer Charakter)^{a)}

	Kontro lle	IES 500 GA 100	IES 300 GA 300	IES 100 GA 500	Phl 1,5%	Phl 3 %	Phl 6 %
M XI	++--	++--	+++--	+++++	++---	+++++	++--
M IX	++++-	++++-	+++--	+++++	++++-	+++--	++++-

^{a)}
+ = Sprosse mit positiver Reaktion
- = Sprosse mit negativer Reaktion

3.2. Wuchsstoffbehandlung in vitro

Der in vitro-Versuch, zeigte eine deutliche Antwort auf die Behandlungen. Da die Sprosse vor dem Austrieb, also in der Ruhephase, geschnitten worden waren, war es leicht, eine neue Kambialaktivität zu erkennen.

Sie ließ sich am stärksten nahe den Blattspuren in Form eines Zuwachsrings beobachten. Ihre Sichtbarkeit beruht auf Strukturunterschieden zwischen dem Vorjahres-Xylem, und neuem Xylem, das einen niedrigeren Lignifizierungsgrad und eine geringere Dichte hat (Abb. 12).

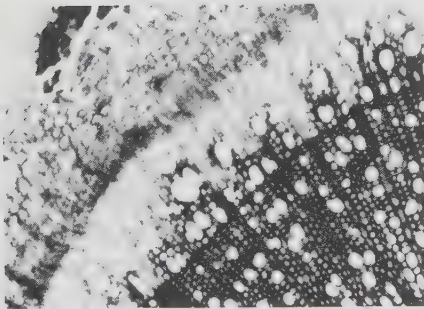


Abb.12: Neuer Xylemring von M XI bei
IES 500 ppm + GA 100 ppm

Die Ergebnisse sind in der Tabelle 5 zusammengefaßt.

Tabelle 5

Zuwachs an neuen sekundärem Xylem nach Behandlung mit
Wuchshormonen a)

	Bitt	M XI	M II	M IV	M IX
IES 500 GA 100	++++	++---	+++++	++++-	++++-
IES 300 GA 300	-----	-----	-----	+---	--
IES 100 GA 500	++++-	++++-	++++-	++++-	++++-
IES 100 GA 100	+---	++--	++--	++--	-----
Kontrolle	-----	-----	-----	-----	-----

a) + = Wiederholungen mit Wuchsreaktion
- = Wiederholungen ohne Wuchsreaktion

Zur Tabelle 5 läßt sich bemerken, daß bei der Kontrolle keine Unterlage zu einer neuen Kambialaktivität induziert wurde. Behandlungen mit Gibberellinsäure allein haben ebenfalls keinen Einfluß, nicht aber bei M IX.

Für dieselbe Konzentration an IES (100 ppm) plus GA (500 ppm) wurde eine Verstärkung des Effekts deutlich. GA wirkt also als Synergist zur IES. Sehr klar wurde auch der Effekt bei IES 500 ppm + GA 100 ppm.

Was physiologisch nicht erklärbar scheint, ist das Fehlen einer Wirkung bei mittlerer Konzentration der beiden Phytohormone. Bei dieser Behandlung wurden die Stümpfe stark verbräunt, was den Transport und damit einen Effekt der Behandlung vermutlich verhindert hat.

Die meisten der Tracheen waren lignifiziert. Der Lignifizierungsgrad war weder mit den Typen noch mit den Behandlungen korreliert.

Da die Intensität der Reaktion sehr unterschiedlich

war, konnte man keine quantitativen Unterschiede zwischen den Typen beobachten. Die stärkste Reaktion bei IES 500 + GA 100 ppm war beim Sämling Bittenfelder und bei M IX; und bei IES 100 + GA 500 ppm bei Bittenfelder und M XI.

Wirkung auf die Rinde.- EVERT (1963) berichtet, daß bei *Pyrus malus* L. die Fasersclereiden und Kristallzellen sich aus den letzten Kambiumderivaten der Saison nach der Winterruhe entwickeln und daß eine scharfe Trennung des vorjährigen und diesjährigen sekundären Phloems am Anfang einer Wachstumsperiode schwieriger als im Xylem ist. Da die Versuchsdauer für eine Differenzierung dieser parenchymatischen Zellen in Fasersclereiden zu kurz war, ist eine anatomische Differenz zwischen diesen Zellen und den neuen Phloemmutterzellen unsicher.

Jedoch wurde eine Aktivität des Phloems als eine Zunahme der Zellen in einer radialen Ordnung beobachtet (Abb. 13 u. 14).

Die Entwicklung des Phloems war parallel zu derjenigen vom Xylem, d.h. bei IES 500 + GA 100 ppm und IES 100 + GA 500 ppm war sie am stärksten. Unterschiede zwischen den beiden Behandlungen lassen sich schwer erkennen.

Abschließend kann gesagt werden, daß durch die Behandlung ein Teilungs- und Streckungsprozess ausgelöst wurde.

An der Basis, hauptsächlich an den ins Wasser getauchten Teilen, wurde eine große Proliferation einer lenticellenartigen Gewebes gefunden. Die gebildeten Lenticellen waren viel größer und Kallusgewebe ohne Verkorkung schob sich an die Oberfläche (Abb. 15 u. 16).

Daß zuviel Feuchtigkeit die Korkbildung verhindern und auch ganz unterdrücken kann, wird von ESAU (1965) berichtet.

Dieses Phänomen war bei den zwei schwächeren Typen am wenigsten ausgeprägt. Die folgende abnehmende Reihe wurde beobachtet:

M II > Bitt > M XI > M IV > M IX (Abb. 17)

Solche Lenticellen entstehen aus einem Riß der Peridermis, der durch ein radiales Wachstum des Rindenparenchyms

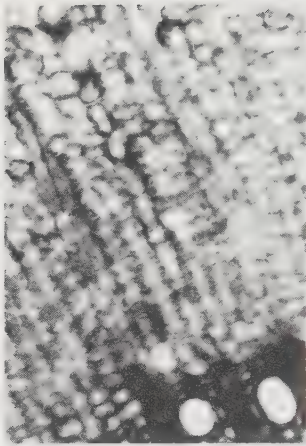


Abb. 13: Phloem von M IX
bei IES 100 + GA 500 ppm

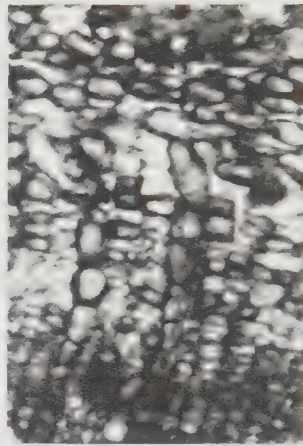


Abb. 14: Phloem von M IX bei
Kontrolle

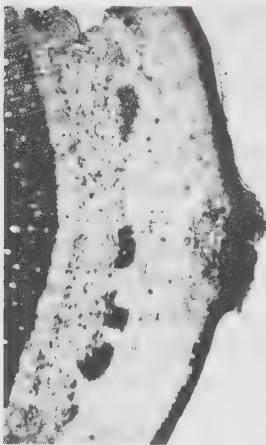


Abb. 15: Normale Lenticelle
von M II

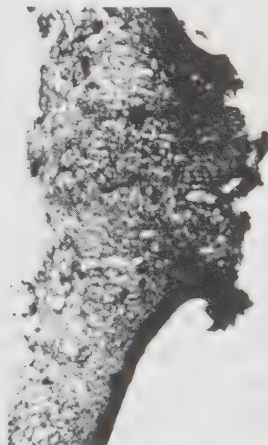


Abb. 16: Neu gebildete und
unverkorkte Lenticelle von
M II

und die geringe plastische Fähigkeit des Periderms verursacht wird.

Demnach löst sich scheinbar ein Wundheilungsprozess aus, und es bildet sich ein Lenticellmeristem.

Das Wachstum der Rinde und die Proliferation der Lenticellen finden nicht statt, wenn die Sprosse ihre Knospen behalten.

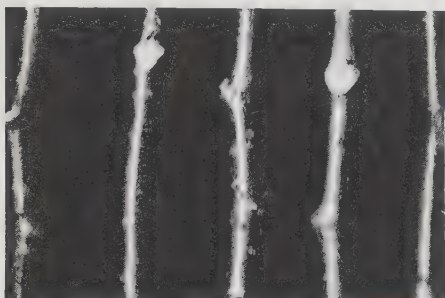


Abb.17: Lenticellenproliferation. Links nach
rechts: Bittenfelder-M XI-M II-M IV-M IX

3.3. Beginn der Lignifizierung

Es kann festgestellt werden:

- a) Schon bei 2 cm Abstand von der Spitze wird Lignin nach dem Phloroglucin-Test bemerkbar (Abb.18).
- b) Die Phloroglucin Reaktion ist zuerst im Xylem positiv (bei 2 u. 5 cm) (Abb. 18 u. 19).
- c) Erst etwa 10 cm von der Spitze entfernt, ist es möglich, Lignin in den Bastfasern mit Phloroglucin zu färben aber mit Safranin gibt es keine oder manchmal eine sehr schwache Reaktion (Abb.20).
- d) Es ist kein gesicherter Unterschied zwischen beiden Typen in der Ligninbildung weder durch Phloroglucin noch mit Safranin in der Streckungszone bemerkbar. Demnach hat die Verholzung an der Spitze mit der Wüchsigkeit des Types keine Beziehung.



Abb.18: Lignifizierte Zone von Apfelsprossen bei 2 cm Abstand von der Spitze

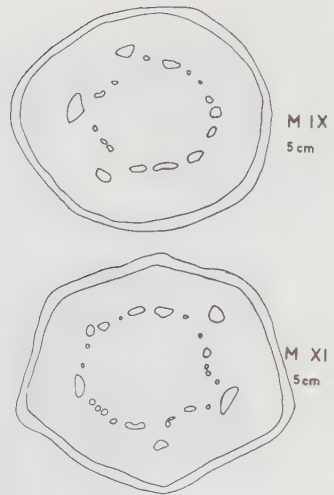


Abb.19: Lignifizierte zone von Apfelsprossen bei 5 cm Abstand von der Spitze

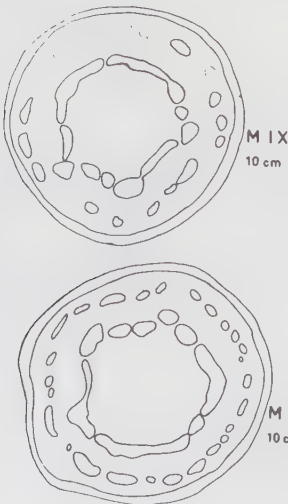


Abb.20: Lignifizierte Zone von Apfelsprossen bei 10 cm Abstand von der Spitze

3.4. Ringokulation

Da ungleiche Bodenverhältnisse eine Streuung des Wachstums verursacht haben, ist ein Effekt der Ringokulation im gesamten Wachstum der Pflanzen nicht signifikant geworden. Trotzdem sind die Reaktionen an der Okulationsstelle immer typisch für jede Kombination gewesen.

Okulationen mit Partnern des gleichen Klones zeigten eine gute Anpassung, das Dickenwachstum der Ringe war identisch mit demjenigen der Unterlage, was bedeutet, daß keine Transportstörung durch die Operation verursacht worden war.

Bei den verschiedenen typischen Propfkombinationen dagegen wurden interessante Reaktionen beobachtet (Abb.21).

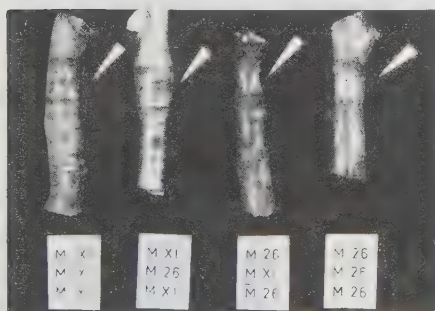


Abb.21: Ringokulationseffekt

Wenn der Ring zu M 26 (schwachwachsend) gehört, wurde sein Dickenwachstum stärker als der des Stammes von M XI. Das stärkere Wachstum ist nicht nur durch eine dickere Rinde, die charakteristisch für M 26 ist, sondern auch durch das Xylem bedingt. Dieser dickere Durchmesser wurde auch



Abb.22: Ausschnitt aus der Grenze einer Überbrückung; links M XI, rechts M 26

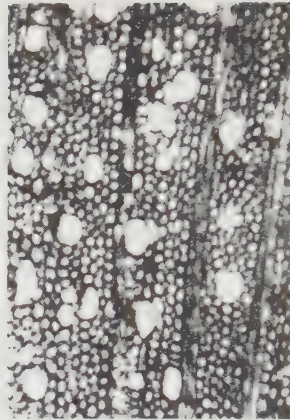


Abb.23: Ausschnitt aus Xylem von M XI in der Überbrückung



Abb.24: Ausschnitt aus Xylem. eines Rings von M 26



Abb.25: Kontaktbereich eines Rings von M XI auf M 26

über dem Ring beobachtet. An der Stelle wo die Ränder des Ringes sich berühren, wurde eine Überbrückung aus der Unteren Unterlage gebildet (M XI). Diese Brücke, und zwar das Xylem, wächst schneller als das vom Ring entstehende Gewebe. Ihre Rinde ist schmaler als diejenige vom Ring des M 26 und hat lignifizierte Bastfasern.

Lagegen hat die Rinde von M 26 keine Bastfasern (Abb. 22). Das Xylem der Brücke hat größere Tracheen und weniger Markstrahlen als das Xylem vom Ring von M 26 (Abb. 23 u. 24). Die Rinde von der Brücke entspricht anatomisch den intakten Typen. Diese Merkmale bestätigen die Ergebnisse von MOSSE (1953) in dem Sinn, daß ein Gewebe wenige anatomische Veränderungen als Ergebnis einer räumliche Annäherung zu einem anderen erblich verschiedenen Gewebe zeigt.

Diese Bestätigung gilt auch beim Ring von M XI. In diesem Fall, war es umgekehrt gewesen. Also, der Durchmesser des Ringes der starkwachsenden Unterlage wurde kleiner als der vom Stamm M 26. Auch hier wurde eine Brücke von M 26 gebildet (Abb. 25).

Zusammenfassend ist zu sagen, daß die Kambialaktivität des Ringes vom Partner weder acropetal, basipetal noch lateral beeinflusst ist. Das ist gültig sowohl beim Ring der starkwachsenden (M XI) als auch der schwachwachsenden (M 26) Bäume.

3.5. Stärke

a) P e r i d e r m: M XI und Bittenfelder haben keine Stärkekörner, aber sie sind anwesend in M IX und M IV bei 2 und 5 cm Abstand von der Spitze. Bei 10-20 und 30 cm ist etwas Stärke in Bittenfelder, M XI und M II aber die anderen haben viel mehr.

b) S t ä r k e s c h e i d e: bei 2 und 5 cm sieht man keine Unterschiede zwischen den Pflanzen. Bei 20 und 30 cm haben M IV und M IX einen höheren Gehalt.

c) B a s t f a s e r n: Bei 2 und 5 cm sieht man kleine Körnchen aber es ist viel Streuung und keine Tendenz

vorhanden. Bei 10 cm sind die Fasern schon lignifiziert.

d) S e k u n d ä r e s P h l o e m u n d X y l e m (im Nachbarschaft dem Kambialzone): Bittenfelder und M XI haben einige kleine Stärkekörnchen.

e) X y l e m s t r a h l e n : Bei 2 und 5 cm ist keine Tendenz zu sehen. Bei 10-20 und 30 cm sind die schwächeren Unterlagen reicher.

f) M a r k : Viel Streuung, deshalb konnte keine Tendenz bemerkt werden.

3.6. Phosphorylase

Am 20 Juni ist die Enzymaktivität im Mark am stärksten. Bei 2 cm Abstand von der Spitze zeigt M XI eine große enzymatische Aktivität im Mark. M IX hatte schon viel Stärke, deshalb war die Aktivität nicht sichtbar. Bei 10 cm hat M XI etwas Aktivität in dem Xylemparenchym und in einigen isolierten Markzellen. Bei M IX war die Aktivität fast nur im Mark und jede Zelle mit mehr Aktivität als bei M XI.

Am 25 Juni: Bei 10 cm zeigt Bittenfelder keine Aktivität im Mark, M XI etwas, M II hat noch mehr, bildet aber kleinere Körner als M XI; M IV und M IX zeigen viel Aktivität im Mark sowie im Periderm.

Am 27 Juni: Eine Wiederholung zeigt bei 10 cm, daß Bittenfelder und M II ähnliche Reaktion haben, M XI hat keine und M IV und M IX die höchste Reaktion.

Am 30 Juni: Bei 5 cm hat M IX die höchste Färbung. Am zweiten Stelle liegt dieses mal M II, an dritter M IV, gefolgt von Bittenfelder und endlich M XI. Bei 10 cm war auch keine Tendenz.

Am 2 Juli: (Siehe Tabelle 6) Es wurden vier Wiederholungen bei 5 cm Abstand von der Spitze durchgeführt. Da die Wiederholungen hintereinander durchgeführt wurden, ist die Aktivität der Enzym nur in jeder Wiederholung vergleichbar, nicht aber zwischen den Wiederholungen.

Tabelle 6

Aktivität der Phosphorylase im Mark (5 cm Abstand von der Spitze) ^{a)}

	Wiederholungen			
	1	2	3	4
Bittenfelder	++	+	+	+
M XI	+	+	+	++
M II	+	+	++	++++
M IV	++	+++	++	+++++
M IX	+	++	+	++

a) Zahl der Kreuze = Zunehmende Intensitätstufe

3.7. Phosphatase

Dieser Test wurde nur am 20. Juni durchgeführt. Bei 2 cm hat M XI eine höhere Aktivität als M IX, aber bei 10 cm ist sie im Mark, Xylem und Rindenparenchym höher bei M IX. Dagegen ist sie im Periderm und sekundären Phloem bei M XI höher geworden.

Die Verteilung der enzymatischen Aktivität ist unterschiedlich für beide Unterlagen. Bei 2 cm hat M XI große Aktivität im Xylem, Phloem, Rinde und Mark, weniger im Periderm. M IX hat eine große Aktivität im Xylem aber weniger in anderen Geweben.

Bei 10 cm hat M IX die größte Aktivität im Xylem und im Mark, M XI dagegen im Xylem, Phloem und Periderm.

3.8. Die Markstruktur

Das Mark, ein Teil des Grundgewebes eines Apfeltriebes, hat seine Zellen in Längsreihen angeordnet; was voraussetzt, daß es aus einem Rippenmeristem entsteht.

Dieses parenchymatische Gewebe hat Zellen, die als Depositorien für Kristalle spezialisiert sind. Nach FEUCHT (1969) wird schon im apikalen Markkörper bis zu 55% des Volumens von den Kristallen ausgefüllt.

Eine weitere Gruppe, und meistens an der Peripherie lokalisiert, besteht aus kleineren Zellen mit dickeren Wänden, die mit der Zeit verholzt werden. Sie bilden die Markscheide. Diese Zellen enthalten Protoplasma und speichern Stärke. Im Inneren sind die Markzellen groß und verlieren relativ früh ihr Protoplasma. Diese Zellen sind wie die Kristallzellen, dünnwändig und nicht lignifiziert. Ähnliche Zellen wie bei der Markscheide befinden sich in Gruppen oder einzeln, relativ homogen verteilt im inneren Mark. In Längsschnitten liegen sie in geordneten Reihen (Abb. 26) und ihre Größe schwankt von $1/2$ bis $1/4$ einer normalen Markzelle. Ebenso, erhöht sich die Häufigkeit dieser Zellen wie die Breite der Markscheide im Knotenbereich und in kurzen Internodien.

In den zahlreichen Querschnitten wurde eine Tendenz zu einer geringeren Häufigkeit dieser zentralen Zellen des Markes mit der Wuchsstärke der Unterlagen beobachtet.

Deshalb wurde eine Klassifizierung von vielen Querschnitten nach der Häufigkeit der spezialisierten Zellen durchgeführt und zwar nach drei Kategorien: (Abb. 27-29) stark-, mittel-, und schwachwachsende Bäume. Die Ergebnisse, die in der Tabelle 7 zusammengefaßt sind, entsprechen dem Mittelwert der Sortierung von 9 Testpersonen.

Tabelle 7
Sortierung der Unterlage (in %-satz) nach der Markstruktur

Klasse	Bitt	M XI	M II	M IV	M IX	% richtige sortierte Pflanzen
Schwach	0,88	4,77	17,22	91,66	50,22	86,12 (M IV+IX)
Mittel	18,00	26,44	57,11	6,33	34,22	40,19 (M II)
Stark	81,11	68,77	25,66	2,00	15,55	77,62 (Bitt+M XI)

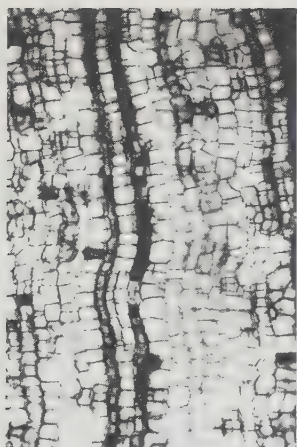


Abb.26: Repräsentativer Längs-
schnitt vom Mark (M XI) mit
spezialisierten dunkel erschein-
den Zellreihen

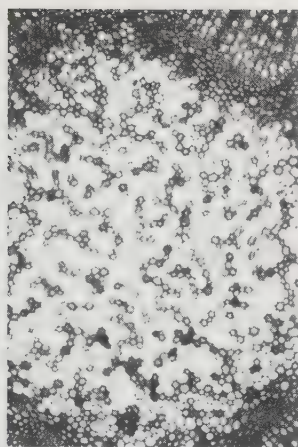


Abb.27: Entsprechender
Querschnitt von M IX

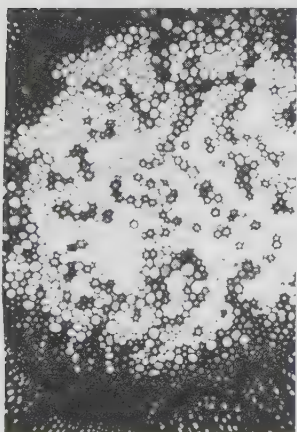


Abb.28: Entsprechender Quer-
schnitt von M II

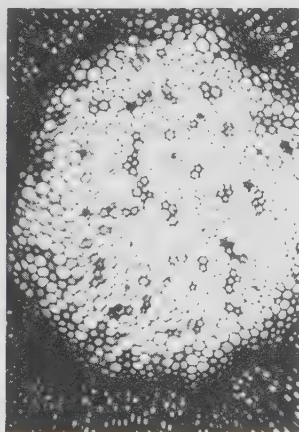


Abb.29: Entsprechender
Querschnitt von M XI

Aus der Tabelle kann man deutlich folgendes sehen:

- a) Ein höherer Prozentsatz an richtig klassifizierten Bäumen besteht in den zwei extremen Klassen.
- b) Ein niedriger Prozentsatz in der mittleren Klasse wird erkennbar.

Eine richtige Trennung der Typen A2 (starkwachsend) und M 26 (schwachwachsend) wurde auf diese Weise ebenso gut durchgeführt.

Die stärkespeichernden Zellen des Marks kann man auch im früheren Entwicklungsstadium in der Streckungszone unterscheiden, wenn noch keine Unterschiede in der Zellwanddicke oder Zellgröße zu bemerken sind. Sie färben sich stärker als normale Markzellen mit Lichtgrün, Mayer's Hämalan, Sauere Phosphatase Test, und für Tannin. Sie sind aktiver in der Stärkesynthese nach dem Phosphorylase Test, und unter Phasenkontrast erscheinen sie mit dichterem Zellinhalt. Alle diese Eigenschaften weisen auf eine größere Aktivität und auf eine relativ frühe Spezialisierung der Zellen hin.

Die Zahl an Kristallen im Mark ist bei M XI und bei M IX auch nicht dieselbe. In der Tabelle 8 sind die Ergebnisse zusammengefaßt. Dafür wurden bei 2, 5 und 10 cm Abstand von der Spitze vier Sprosse von M XI und IX genommen und die Kristalle in 6 Schnitten pro Stellung gezählt. Außerdem wurden die Kristalle in dem mit Wuchsstoffen behandelten Material gezählt. In diesem Fall, wurden 20 Sprosse von jedem Typ mit jeweils 10 Schnitten pro Sproß gezählt. Die Kristalle sind besser sichtbar, wenn ein Objektiv-Planar 6,3 X mit einem achromatischen-aplanatischen-Phasenkontrast-Fluoreszenz Kondensor (1,4) (Zeiss N^o 465278) kombiniert ist. Der Kondensor muß auf PH 2 (weiß) und nicht auf Dunkelfeld eingestellt werden oder er wird mit dem Objektiv Ph2 Neofluar 16 X/0,40 mit dem Kondensor auf Ph3 (weiß) eingestellt. So hat man ein Dunkelfeld mit folgenden Vorteilen über die normale Einstellung eines Dunkelfeldes: a) gesamte Sichtbarkeit des Feldes; b) man braucht kein Öl zwischen Kondensor und Objektträger; c) der Kontrast der Kristalle mit dem Hintergrund ist stärker. (Abb. 30)

Tabelle 8

Zahl an Ca-Oxalatkristallen pro Schnitt im Mark

	M XI 2. Mai 15. Juni	M IX 2. Mai 15. Juni
2 cm	14,6	54,5**
5 cm	17,6	42,3**
10 cm	15,3	28,0
20 cm	8,2	30,8**

** Signifikant für $P < 1\%$

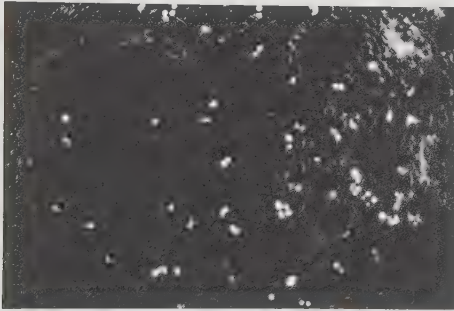


Abb. 30: Ca-Oxalat Kristalle
im Mark von M IX

4. Diskussion

Wie schon erwähnt, besteht bei Apfeltrieben eine statistisch nicht gesicherte Tendenz eines bei zunehmendem Wachstum abnehmenden Rindenanteils (BUSCH u. WINKLER, 1961). Die eigenen Experimente beabsichtigten, mittels Wuchsstoffbehandlungen, Rückschlüsse über die Physiologie des Rinden- und Xylemwachstums zu erhalten.

Weder bei dekapitierten Pflanzen noch bei geschnittenen Sproßstücken konnte jedoch eine spezielle hormonale Wirkung auf die Phloem- oder die Xylembildung festgestellt werden. Das steht scheinbar mit anderen Arbeiten in Widerspruch (DIGBY u. WAREING, 1966), wonach ein niedriges IES/GA Verhältnis zu einer Phloemförderung und ein höheres zu einer Xylemförderung führen.

Jedoch, die im eigenen Versuch beobachtete Wirkung war weniger auf die Kambialaktivität sondern vielmehr auf das Rindenparenchym lokalisiert. Eine solche Wirkung wurde auch bei Apfeltrieben mit NAA beobachtet und noch deutlicher in Kombination mit einem Cytokinin als mit GA. (PIENAZEK u. SANIENSKI, 1968). HEINICKE (1968) konnte mittels Polyäthylen-Beuteln O_2/CO_2 und Äthylen Konzentration regulieren und eine Vermehrung der Rinde induzieren. Er bezieht die Wirkung auf die endogene Äthylenbildung, da mit einer Zugabe von Äthylen die meristematische Aktivität stark erhöht werden konnte.

Daß Auxin die Zellteilung manches Gewebes unter bestimmten Bedingungen induzieren kann, ist nicht zu bezweifeln. Jedoch weniger bekannt ist die beobachtete Wirkung vom Phloridzin auf die Zellteilung und -streckung. In der Regel wird dieses Phenol als Hemmstoff angesehen (siehe Literaturübersicht). AVRON u. NEUMANN (1968) berichten, daß es die Energieübertragung in der Photophosphorylierung hemmt. Es hat auch einen negativen Einfluß auf den Transport von Glucose in tierischen Geweben (RAMWELL et al, zit. von HARBORNE, 1964) und auf den Ionentransport in Chloroplasten (PACKER et al, 1970).

MARTIN u. STAHLY (1967) und MARTIN u. WILLIAMS (1967)

finden einen höheren Gehalt von Phloridzin in der Rinde von M XVI (starkwachsend) als bei M IX (schwach). Es gibt Angaben über eine fördernde Wirkung von Phloridzin and anderer Phenole von Apfel auf die IES-Bildung aus Tryptophan durch *Taphrina* sp. (KEFELI u. TURECKAJA, 1967). KAMINSKI u. PIENAZEK (1968) berichten von einem Synergismus von Phloridzin mit Gibberellinen und Cytokinin auf die Keimung von Apfelsamen.

Das Phloridzin kann die IES Oxydase-Aktivität fördern (STENLID, 1968) ein Enzym das funktionell den Peroxydasen nahe steht. Letztere können z.T. die Äthylensynthese beeinflussen (SCHRAUDOLF, 1969) und evtl. in der von HEINICKE (1968) angegebenen Weise wirksam werden.

Aus dem eigenen Versuch kann man nicht schließen, ob das Phloridzin durch eines von diesen Systemen oder andere gewirkt hat. Es wäre interessant, diese Ergebnisse zu überprüfen und die Wirkung von Phloridzin in einem breiteren Konzentrationsbereich und auch in anderen Systemen, z.B. Gewebekultur, zu durchführen. Schwierig sind Konzentrationseffekt-Vergleiche zwischen Apfeltrieben wegen ihres sehr hohen endogenen Gehalts, von dem vermutlich nur ein kleiner Teil, wenn überhaupt, eine regulierende Wirkung hat. Ein erster Schritt in dieser Richtung hat gezeigt, daß wenigstens die Äquivalentmenge einer streckenden Sproßspitze von M IX keine Hemmung auf das Kalluswachstum von M II in Vitro verursacht. Trotzdem sollte noch überprüft werden, ob das Autoklavieren diese Substanz zerstört. Daß Hemmstoffe auch eine fördernde Wirkung haben können, zeigen die Ergebnisse von DÖRFFLING (1964), wobei er einen Synergismus bei der Teilungsfähigkeit des Kambiums zwischen IES und Inhibitor bemerkt hat.

Das undifferenzierte und parenchymatische Gewebe im Xylem nach Behandlung mit einem hohen GA/NAA Verhältnis, bestätigt die bei anderen Gehölzen gefundenen Ergebnisse von WAREING (1958) und DIGBY u. WAREING (1966).

PIENAZEK u. SANIENSKI (1966) und PIENAZEK et al (1970) beschreiben auch einen Synergismus von NAA mit GA oder BA in der Kambialaktivität von Apfelsprossen, wobei das BA eine

stärkere negative Wirkung auf die Xylemdifferenzierung zeigt. Aus diesen Tatsachen kann man schließen, daß nicht nur die Anwesenheit sondern auch sehr genaue Konzentrationsverhältnisse von Wuchsstoffen und wahrscheinlich auch von anderen endogenen Verbindungen für eine normale Xylembildung und -differenzierung verantwortlich sind.

Eine Dekapitierung scheint bei M XI anders als bei M IX zu wirken, da die Lignifizierung, wenn auch kurzfristig, bei dem letzt genannten Typ unterdrückt wurde. Bekanntlich wird das Auxin hauptsächlich polar transportiert, andererseits wurden Gibberelline im Blutungssaft von Apfelbäumen nachgewiesen (JONES u. LACEY, 1968). Es könnte auf diese Weise eine Störung in dem Auxin/GA Verhältnis geben; trotzdem wäre eine solche Interpretation gefährlich, da es widersprechende Literaturangaben gibt.

IBRAHIM (1968) findet mehr Gibberelline im Wurzel-exudat von starkwachsenden als in schwachwachsenden Bäumen, CARLSON u. ROBITAILE (1970) jedoch stellen im Xylemsaft vom Zwischenstamm das Gegenteil fest. Außerdem, macht die Anwesenheit von Cytokininen und Hemmstoffen im Xylemsaft das Bild noch komplizierter (IBRAHIM, 1968; JONES, 1965).

Bei dem eigenen in Vitro Versuch, wo diese Faktoren und der Einfluß der Knospen nicht vorhanden waren, läßt sich jedoch kein Unterschied zwischen Verhältnissen von IES/GA beobachten. Die Tatsache, daß GA allein keine Aktivität in der Kambialzone zeigte, stimmt nicht mit den Ergebnissen von WAREING (1958), und DIGBY u. WAREING (1966) und denen von DE MAGGIO (1966) überein. Jedoch eine Erklärung dafür könnte sein, daß nicht nur GA_3 im Apfel vorhanden ist (CARLSON u. ROBITAILE, 1970), sondern auch GA_4 und GA_7 wenigstens bei Apfelsamen (DENNIS u. NITSCH, 1966; LUCKWILL et al, 1969) vorkommen.

Die Ringokulation zeigt jedoch, daß obwohl Gewebe zweier Sorten unter denselben Ernährungsbedingungen und Einflüssen von endogenen Faktoren stehen, ihre genetische Information nicht beeinflußt wird.

Die kleine Schwellung von M XI über dem Ring von M 26 könnte durch eine mechanische Transportstörung bei der Veredlung bedingt sein. Dann wäre es denkbar, daß sie auch bei der umgekehrten Kombination vorhanden wäre, jedoch wurde bei der letzten keine Wirkung sichtbar.

Trotzdem bleibt die Möglichkeit, daß es doch eine Transportstörung gibt, aber nicht mechanischer Art sondern physiologisch durch einen langsameren Transport und, bzw. durch spezielle Umsetzungen von Substraten. Das deckt sich eher mit der in der Literatur oft gefundenen Wirkung der Zwischenstammlänge auf das Wachstum und andere physiologische Vorgänge, was zum Teil die Unterlagen-Reis Beziehungen erklären könnte (MÜLLER u. BORK, 1953; DANA et al, 1962; ROBERTS u. BLANEY, 1967; BURMISTROW, 1968; FRED et al, 1968; LOCKARD u. LASHEEN, 1971).

Ähnliche Ergebnisse wurden von MOSSE (1953) schon berichtet, wenngleich sie unter anderen Gesichtspunkten durchgeführt worden sind. Eine Schwellung von schwachwachsenden Zwischenstämmen wird auch von PARRY u. ROGERS (1968) berichtet.

Im allgemeinen haben die schwächeren Unterlagen (M IX u. M IV) im Sproß (Juni) einen höheren Gehalt an Stärke als die starkwachsenden Unterlagen. Jedoch lassen sich praktisch nur zwei Gruppen unterscheiden, und die Intensität der Reaktion ändert sich von Tag zu Tag, was dieses Merkmal als Basis für eine Charakterisierung selbst von nur von zwei Wuchsgruppen unter den Typen unsicher macht.

MARTIN u. WILLIAMS (1967) fanden auch mehr Stärke in der Rinde von M IX als von M XVI (starkwachsend), trotzdem waren die größten Unterschiede am Ende der Vegetationsperiode, was vielmehr eine Beziehung mit der Länge der Vegetationsperiode und nicht mit der Wuchsstärke vermuten läßt.

Die Tests für Phosphorylase und Phosphatase bringen auch keine deutlichen Hinweise für eine Aufklärung der Fragestellung.

Die Unterlagen unterscheiden sich nach Wuchsstärke histologisch durch den Differenzierungsgrad ihres Marks.

Es gibt histochemische Hinweise einer hohen Stoffwechselaktivität im Mark der schwächeren Unterlagen. Jedoch ist diese größere Aktivität nicht im Gesamt-Gewebe gegeben, sondern in sehr spezialisierten Zellen. Ob diese Zellen eine bestimmte physiologische Funktion ausüben, ist fraglich. BORNKAMM (1965) findet eine Parallele zwischen Oxalatgehalt und Proteingehalt in einem Gewebe. Die höhere Ca-Oxalatmenge im Mark von M IX könnte evtl. ebenfalls mit einer höheren Aktivität in Beziehung stehen.

Die Kristallzellen sind hauptsächlich im Mark, Phloem und Rindenparenchym vorhanden. Jedoch nach dem drusenförmigen Kristall-Typ sind nur die von Rindenparenchym und Markzellen vergleichbar. Im Phloem treten sie als tetragonale Kristalle auf. Da der Kristall in Drusen monoklin und als solcher monohydriert ist, und der tetragonale dihydriert ist (v. DENFFER. 1971) läßt sich vermuten, daß sie unter verschiedenen Bedingungen oder verschiedenen Entwicklungsphasen gebildet worden sind. WATTENDORF (1969) nimmt an, daß das Cytoplasma von vorausdeterminierten Zellen die Kristallbildung genau steuert und auch auf die Kristallform einen Einfluß hat.

FEUCHT (1969) berichtet, daß bis 55% des Volumens des apikalen Markkörpers von Kristallen ausgefüllt sein kann. Aus dieser Beobachtung und der Tatsache daß eine Auflösung der Kristalle weniger bekannt ist, kann man annehmen, daß die Kristalle vom Mark in den Apikalknospen gebildet wurden. Da im Kallus vom Apfel nur selten Ca-Oxalat beobachtet wurde, kann seine Entstehung nicht mit Zellteilungsprozessen oder nur mit dem parenchymatischen Charakter eines Gewebes zusammen hängen, sondern vielmehr mit Differenzierungsvorgängen, die im Sproßapikalbereich, bei der Differenzierung primären und sekundären Gewebes, geschehen.

Also, der Unterschied im Anteil der Ca-Oxalat Kristalle könnte als ein Abbild von spezifischen Differenzierungsvorgängen interpretiert werden. Da auch die schwachwachsenen Bäume sehr aktive Zellen im Mark zeigen, könnte zwischen den beiden Merkmalen eine Beziehung bestehen.

Da im Herbst die Stärkespeicherung im Mark gerade in diesen Zellen geschah, wird es offensichtlich, daß die schwachen Unterlagen bessere Voraussetzungen für eine Akkumulation von Stärke haben. Die reihenartige Anordnung von solchen Zellen, die auch transversal in Verbindung sind und ihre höhere Phosphatase Aktivität lassen die Möglichkeit offen, daß sie spezielle Transportfunktionen in lateraler und vertikaler Richtung unter Einschluß der Stärkescheide, der Markstrahlen und des Phloems, ausüben.

Das Verhalten des Marks könnte als eine Parallele zu dem der Wurzeln aufgefaßt werden (höherer Prozentsatz an lebendigem und speicherndem Gewebe, siehe Literaturübersicht).

JACOBS (1965) findet bei *Coleus*, daß Auxin basipetal auch im Mark beweglich ist, und zwar mit gleicher Geschwindigkeit und mit weniger Verlust wie im vaskularen Gewebe. Es wäre vielleicht nicht sinnlos zu untersuchen, ob das Mark, das einen großen Volumenteil einer Apikalzone füllt, auch in vivo bei Apfel und andere Pflanzen eine Rolle im Auxintransport spielen könnte.

MASUDA (1961) findet eine Parallele in der Wirkung von IES und Oxalsäure auf das Streckungswachstum und erklärt das durch die starke chemische Affinität von Oxalsäure mit Calcium. Durch diese Säure erfolgt eine Trennung des Ca von den Pektinsubstanzen, was in einer Erhöhung der Plastizität der Zellwand resultiert. Ob dieses System eine regulierende Rolle in vivo gegen einen Überschuß an Ca spielt (höherer Ca-Oxalat in Knospen) ist völlig offen.

IV. BIOCHEMISCHE BESTIMMUNGEN

1.- Literaturübersicht

Einige Autoren haben sich direkt mit der chemischen Zusammensetzung der Triebe verschiedener Unterlagen befaßt.

So hat man negative Korrelationen zwischen der Wuchsstärke und der elektrischen Leitfähigkeit eines Äthanol- (TAPER et al 1962) und Wasserextraktes (TAPER et al 1963) von Trieben gefunden.

KATZFUSS (1962) findet in einem Vergleichsversuch der Mineralzusammensetzung von Triebrinde während der Ruhephase keine Korrelation in der Wuchsstärke für N, K, Mg, und Fe, eine positive Korrelation für Ca und eine negative für P.

Organische Verbindungen, wie Phenole, löslicher und gesamter Stickstoff und Kohlenhydrate sind von MARTIN und STAHLY (1967) und MARTIN und WILLIAMS (1967) analysiert worden.

GRINENKO et al (1967) finden einen höheren Prozentsatz im Einbau von P in Nucleotide und Zuckerphosphat bei schwachen Unterlagen.

Mit der IES-Zerstörung und hemmenden Wirkung auf das Wachstum von Wurzel-, Trieb-(Rinde) und Blattextrakten haben sich MILLER (1966), IBRAHIM (1967) und GUR u. SAMISH (1968) befaßt. Hier wurde eine negative Korrelation mit der Wuchsstärke gefunden. IBRAHIM (1967) fand auch, daß Wurzelexudate schwächerer Unterlagen eine niedrigere gibberellinähnliche Aktivität haben als stärkere Klone.

Andere Autoren haben dieses Problem unter anderen Gesichtspunkten in Angriff genommen. Sie haben den Einfluß der Unterlagen auf die Zusammensetzung des Triebes (WARNE und WALLACE, 1935; PRIESTLEY, 1959), des Blattes (GLIEMEROTH, 1962; WHITFIELD, 1963; IBRAHIM, 1967; GRINENKO und ZAVALKO, 1967; MOORITS, 1968; WARNE u. WALLACE, 1935), oder auf physiologische Prozesse wie Transpirationskoeffizient und Nettoassimilation (GREGORY, 1956) oder Atmungspotential und Hitze und Dürreempfindlichkeit der Chloroplasten (GRINENKO u. ZAVALKO, 1967) studiert.

Dieser Gesichtspunkt hat den Vorteil, daß oft das Verhalten und die Leistungsfähigkeit einer Pfropf-Kombination anders sind, als bei einer unveredelten Unterlage. Ein Nachteil ist, daß in diesem Fall ein anderes genetisches Material mit ins Spiel kommt.

Die meisten der Analysen sind mit Mischproben durchgeführt, was dazu führt, daß die Streuung zwischen den Wiederholungen relativ klein bleibt und signifikante Unterschiede von zwei Werten möglich sind.

Da für einen Frühdiagnösetest die einzelnen Individuen interessieren, wurden die folgenden Analysen mit einzelnen Pflanzen durchgeführt:

a) D a s L i g n i n, das als ein komplexes Polymer von Phenylpropanoiden durch Dehydrierungsreaktionen eines 3-p-Hydroxycinnamylalkohols gebildet wird (NEISH, 1965), ist mengenmässig einer der größten organischen Bestandteile eines Baumes, besonders im Xylem und etwas in den Fasern des Phloems. Das Holz besitzt etwa 22 bis 34% Lignin bei den meisten Baumarten, und der Rest besteht aus Zellulose, Hemizellulose und extrahierbaren Substanzen (NEISH, 1965; KÜRSCHNER, 1966).

Das Lignin kann man in den drei Zellwandteilen finden, also in der Mittellamele, in der Primär- und Sekundärwand, aber es konzentriert sich in den zwei ersteren. Seine Bildung fängt in der Mittellamele an und von dieser Stelle aus erfolgt eine Synthese nach dem Innern der Zellwand (KERR u. BAILEY; WARDROP u. BLAND zit. von ESAU, 1965).

Das Lignin ist charakterisiert durch einen hohen Gehalt an Kohlenstoff und Methoxylgruppen. Seine Verbrennungswärme beträgt 65 cal/gr. Das ist fast das Doppelte als bei der Glucose (3,7 cal/gr) (KRAMER u. KOSLOWSKI, 1960).

Eine große Menge vom Substanz wird für die Zellwandbildung benötigt. So schätzt KREMMERS daß für jedes Gramm Zellwandmaterial, das im Primärstadium gebildet wurde, später bei der Holzreife 20 gr. hinzugefügt werden. Davon sind 11 gr. Zellulose und 5 gr. Lignin (KRAMER u. KOSLOWSKI, 1960).

Unter der Hypothese, daß das Lignin ein wichtiger

Bestandteil eines Baumes ist (45% der Zellulose) und mit fast doppelt so viel Verbrennungswärme als Zellulose besitzt, könnte sich möglicherweise eine Korrelation zwischen der Wuchsstärke und dem Verlust an Energie, die durch biosynthetische Arbeit verbraucht wurde, ergeben.

b) St i c k s t o f f.- Auch morphogenetische Prozesse können sich in der chemischen Zusammensetzung der freien Aminosäuren und der Proteine zeigen.

So stellen STEWARD u. DURZAN (1965) dar, daß die Wachstumsinduktion von Zellen des Ruhezentrums (quiescent center) am Vegetations-Kegel parallel mit einer schnellen Verminderung von alkohollöslichen Stickstoffverbindungen und einer Erhöhung in der Proteinfraktion geschieht.

Dieser Wechsel in der Proteinfraktion ist außerdem durch eine Veränderung in der Proteinzusammensetzung charakterisiert. Im allgemeinen nehmen die Amide ab (besonders Asparagin) und das Alanin zu.

Je ähnlicher eine Zelle einem meristematischen Zustand ist oder je näher die Gewebe zum meristematischen Zentrum sind, desto reicher ist das Protein an basischen Aminosäuren.

Wenn die Apfelfrüchte ihre Zellteilungsphase beendet haben, akkumulieren sie löslichen N während der Streckungsphase (STEWARD u. DURZAN, 1965). CHRISTIANSEN u. THIMANN (1949) berichten, daß die Aminosäuren stark während des Sproßwachstums abnehmen und das ist noch ausgeprägter, wenn Auxin anwesend ist. Durch dieses Hormon ist die Protein- und Asparaginsynthese gefördert.

Ein bemerkenswerter Unterschied zwischen Unterlagen verschiedener Wuchsstärke liegt in dem Längenwachstum. Deshalb kann man sich vorstellen, daß hierzu eine Analyse des Stickstoffs in der Zone der Zellteilung und der Differenzierung (Subapikalmeristem) neue Daten erbringen könnte.

c) P h e n o l e.- Viele Faktoren sind bei der Regulation des Wachstums und der Entwicklung einer Pflanze beteiligt.

Eine leitende Rolle haben die Wuchsstoffe. Jedoch nicht weniger wichtig sind die Hemmstoffe. Eine Gruppe der letztgenannten Stoffe sind die phenolischen Verbindungen. (FRIES, 1968; SARAPUU, 1965; SARAPUU und VARDJA, 1968; KNYL, 1967; GROCHOWSKA, 1968; KEFELI, 1968; WILSON und RICE, 1968).

Der endogene Gehalt an Polyphenolen in Blättern von Sprossen mit begrenztem Wachstum ist nach MOORITS (1968) höher als bei starkwachsenden Sprossen. Andererseits gibt es Hinweise, daß jedoch die totalen Phenole von der Rinde starkwüchsiger Malus Unterlagen höher sind als bei den schwächeren (MARTIN u. WILLIAMS, 1967).

TOMASZEWSKI (1964) berichtet, daß die Wirkung vieler Phenole von ihrer Konzentration abhängig ist und daß sie sowohl eine Hemmung als auch einen Synergismuseffekt mit Auxinen verursachen können.

Es hat sich auch gezeigt, daß der Oxydationsgrad mancher Phenole für die enzymatische Zerstörung der IES in Vitro wichtig ist (PARISH, 1969). Daraus ist auf eine Rolle der Phenoloxidasen beim Wachstum zu schliessen.

Viele Pflanzen haben Polyphenoloxidasen, die auch mit dem Stoffwechsel der IES in Beziehung stehen können (TOMASZEWSKI, 1962, 1964; TOMASZEWSKI u. THIMANN, 1966; ZENK u. MÜLLER, 1963; RAY, 1958; GALSTON, 1969; STENLID, 1968; STONIER et al 1970).

Auxinbildung aus Tryptophan durch phenolische Ester wird auch berichtet (WHEELER u. KING, 1968).

Aus diesen Gründen wurde eine chromatographische Analyse phenolischer Substanzen und ein einfacher schneller Test für Peroxydase durchgeführt, was gemäß anderen Literaturangaben (BEAKBANE, 1941; GLIEMEROTH, 1962; GUR u. SAMISCH, 1968) eine Hilfe für den Frühdiagnostest geben könnte.

Auf Grund einiger Hinweise aus histochemischen Beobachtungen (II Teil) wurde außerdem ein chemischer Test für die Aktivität der saueren Phosphatase und eine Fraktionierung des Ca durchgeführt.

2. Material und Methode.-

2.1. Lignin Bestimmung

25 Pflanzen aus den Klonen M IX - M IV - M II - M XI - und der Sämling Bittenfelder wurden im Winter 1968 gepflanzt und im März geschnitten. Die geschnittenen Sprosse wurden getrocknet, die Rinde entfernt und das Holz gemahlen. Das Pulver wurde bei 90°C getrocknet, um das Trockengewicht zu stimmen. Aliquote Teile zwischen 0,5 und 1 Gramm wurden für die Klason Lignin Bestimmung genommen.

Bei der Klason Methode (FREUDENBERG, 1968) werden die Polysaccharide und andere Macromoleküle mit 70% Schwefelsäure bei Zimmertemperatur hydrolysiert und gelöst. Das Lignin hat hierbei einigen Verlust an Wasser und kann einige Verunreinigung haben, die den Methoxylgehalt erniedrigen können (FREUDENBERG, 1968). Deshalb ist diese Methode für weitere chemische Untersuchungen nicht geeignet.

Es ergibt sich auch die Gefahr, daß Humifikationsprodukte der Kohlehydrate und Fural-Lignin-Kondensationsprodukte eingeschlossen werden, und daß Schwefelsäure chemisch gebunden wird (KÜRSCHNER, 1966). Jedoch, für den Zweck dieser Untersuchung kann diese Methode benutzt werden, da nicht die absoluten Werte des Lignins sondern die Verhältnisse zwischen den Unterlagen von Bedeutung sind.

Die Bestimmung erfolgte nach der Modifikation von MAHOOD u. CABLE (RYUGO, 1962).

Die Aliquoten wurden mit H_2SO_4 72% (10 cc) behandelt, die Luft 2 - 3 mal unter Vakuum extrahiert und 18 Stunden unter gelegentlichem Schütteln stehen gelassen. Die Säure wurde mit Wasser bis auf 3% verdünnt und unter Rückfluß gekocht. Der unlösliche Rückstand wurde durch H_2SO_4 5% ig gewaschenen durchs Asbest filtriert, bei 105°C getrocknet, gewogen und in % des Trockengewichts ausgedrückt.

2.2. Stickstoff Bestimmung

Im ersten Jahr wurden 5 frische Sprosse am 3. und 31. Mai von M IX und M XI entnommen. Am 12. Juli wurde Rinde und Holz der Sprosse getrennt analysiert.

Das Material wurde 5 mal mit 80% kochendem Äthanol

extrahiert, und die Extrakte auf mit Dowex 50 x 4;100-200 mesh) gefüllte Säulen überführt. Die Säule wurde mit H_2O gewaschen und die Amino-Verbindungen mit 2n NH_4OH eluiert, das Eluat getrocknet und der Amino-N kolorimetrisch mit Ninhydrin bei 575 nm bestimmt. Die Eichkurve wurde mit einer Mischung Glutamin + Phenylalanin 1:1 hergestellt. (100 mg Glutamin + Phenylalanin 1:1 = 13,8 mg N).

Mit dem neutralen Eluat wurde außerdem eine Glucose-Bestimmung durchgeführt. Dafür wurde Hexokinase Methode von Boehringer (TC-X-II, 1593 TGAB) verwendet.

Im zweiten Jahr wurden die ersten 2 cm der Sprosse vom M IX, IV, II, XI und Bittenfelder am 28 Juni 1969 entnommen. Die alkoholhollöslichen und unlöslichen Fraktionen wurden mit der Nessler Methode bestimmt. Aus diesen Werten wurde das Verhältnis der löslichen zur unlöslichen Fraktion berechnet.

In den beiden Jahren wurden vier Wiederholungen pro Klon gemacht und die Werte als Prozent des Frischgewichts ausgedrückt.

Um einen Überblick über die Aminosäurezusammensetzung zu haben, wurde eine chromatographische Analyse durchgeführt. Die Aminosäuren wurden wie schon beschrieben in der Kationenaustauschsäule getrennt (HEILENZ et al, 1969) Die so gewonnene Aminosäurelösung wurde dann auf DC-Fertigplatten Cellulose Merck aufgetragen.

Die unlösliche Fraktion wurde nach DRAWERT et al (1963) hydrolysiert. 50 mg Trockenmaterial wurden mit 4 ml einer 80 % Phenollösung 5 min. bei $50^{\circ}C$ erwärmt, dann nach einer Zugabe von 6 ml 10 n HCl, 20 Std. bei $105^{\circ}C$ hydrolysiert. Das kalte Hydrolysat wurde mit Äther extrahiert, die Äther-Phenolphase mit Wasser reextrahiert und die wässrige Phase konzentriert und chromatographiert. Damit soll die Huminbildung verhindert werden.

Die Entwicklung erfolgte mit n-Butanol/Essigsäure/Wasser (3:1:1) in einer Richtung und mit wassergesättigtem Phenol in der zweiten. Das Chromatogram wurde mit Ninhydrin 1 % + Collidin 2 % in Athanol angefärbt.

2.3. Peroxydase und saure Phosphatase Aktivität

Peroxydase Test:

Material von M IX, IV, II, XI und Bittenfelder wurden am 22. Juli 1969 entnommen.

25 mgr der Streckungszone (Frischgewicht) wurden in 0,03 M Phosphatpuffer pH 6,8 gemahlen. Die Suspension wurde bei 1360 x G zentrifugiert und 1 ml Aliquot der trüben Flüssigkeit in ein Medium mit 4 ml Phosphatpuffer pH 6,8, 1 ml 5×10^{-3} M H_2O_2 und 1 ml 1% Guayacol in Äthanol eingesetzt. Die Reaktion wurde in einem Kolorimeter (Bausch & Lomb Spectronic 20) bei 470 nm gemessen (GOREN u. MONSELISE, 1965), und zwar sofort nach dem Mischen und nach 3 min. wieder. Die relative Aktivität ist durch den Absorptionsunterschied (OD) der beiden Meßwerte ausgedrückt.

Saurer Phosphatase Test:

50 mg⁻ der Streckungszone von M IX, II, und XI wurden am 15.5. 1968 entnommen.

Das Material wurde mit 2 ml destiliertem Wasser gemahlen und zentrifugiert. Davon wurden 0,2 ml Aliquote für den enzymatischen Test entnommen (Test von Boehringer TC-Q Best. Nr 15988 TSAA).

2.4. Phenole

Die Streckungszonender Sprosse wurden 5 mal mit kochendem Methanol extrahiert. Der Extrakt wurde in Vakuum bei 40°C getrocknet und mit alkalischem Wasser pH8 mit $NaHCO_3$ aufgenommen.

Die alkalische Lösung wurde mit Essigsäureäthylester (1:1) ausgeschüttelt.

Die wässrige Phase wurde dann mit HCl angesäuert bis pH 2.5 und 4 mal mit Essigsäureäthylester ausgeschüttelt.

Die organische Phase wurde bei 40°C unter Vakuum getrocknet, der Rückstand mit Methanol aufgenommen und im Kühlschrank bis zur Chromatographie gelagert.

Die chromatographische Analyse erfolgte auf DC-Fertigplatten Cellulose Merck (20 x 20) und auf Papier, Schleicher u. Schüll 2045 a.

Folgende Laufmittel wurden verwendet:

- a) n-Butanol/Essigsäure/Wasser (3:1:1)
- b) 2% Essigsäure (HARBORNE, 1959)
- c) Benzol/Essigsäure/Wasser (obere Phase 6:7:3) (IBRAHIM u. TOWERS, 1960)
- d) 8% Na Cl im 0,1 N HCl (HARBORNE, 1964)
- e) Essigsäure/k. HCl/Wasser (30:3:1) (HARBORNE, 1959)

Zum Nachweis der einzelnen Verbindungen auf dem Chromatogram wurden verwendet:

Al Cl₃ 2% (in Alkohol)
Fe Cl 1% + Kaliumferricianid 1% (1:1)
Vanillin-Salzsäure-Reagens (200 mgr Vanillin + 20 ml Äthanol + 20 m.k. HCl)
p-dimethylaminozimtaldehyd 2% (in k. HCl + Aceton 2:8)
Naturstoffreagens A 1% (in Methanol/Propanol 1:1)
Fluoreszenzverhalten unter UV-Lampe vor und nach Bedampfung mit Ammoniak
UV-Spektrum.

2.5. Fraktionierung der Ca-Formen

Die Trennung der Ca-Fraktionen wurde in lyophylierten und entblätternen Sproßspitzen (5 cm) durchgeführt.

Über der Methodik der Extraktion der verschiedenen Fraktionen stellten BOLLARD u. BUTLER (1966) ein Referat zusammen. Die hier angewandte Methode (nach KONISHI u. KASAI, 1963) ist von BOLLARD u. BUTLER beschrieben und ist auch früher bei Apfelmateriale angewandt worden (FEUCHT, 1967).

Das Verfahren ist folgendes:

- a) Extrakt mit heißem Wasser; enthält organische Salze des Ca, ausschließlich etwa 30% des Ca-Phosphat).
- b) Extrakt mit 1N NaCl; enthält das an Proteine gebundene oder absorbierte Ca, das Ca-Pektinat und -Carbonat.
- c) Extrakt mit 2% Essigsäure; enthält den Rest von Ca-Phosphat.
- d) Extrakt mit 5% HCl; enthält das Ca-Oxalat.

Das gemahlene Material wurde in einem Mikroglassfilter (2 ml) und mit dem Extraktionsmittel gewaschen. Vor-

versuche wurden durchgeführt, um die Menge des benötigten Extraktionsmittels für eine vollständige Ca Extraktion zu ermitteln.

Wegen der geringen Menge an Ca pro Fraktion einzelner Sprosse, wurde es nötig, eine Mikromethode anzuwenden. Es wurde das von WILLIAMS u. WILSON erarbeitete Kolorimeter verfahren, nach einer Modifikation von KOHL (1965) benutzt.

Die Methode beruht auf der Entwicklung einer roten Färbung des Ca-Komplexes mit Glyoxal-bis-(2-hydroxyanil) in alkalischem Milieu. Dieser Komplex wird durch Schütteln mit eisgekühltem Isoamylalkohol in die organische Phase überführt und bei 535 nm gemessen.

Die Extrakte c und d wurden getrocknet und verascht, da sonst Störungen durch pH und auch von anderen extrahierbaren organischen Substanzen entstehen.

Es wurden 3 Wiederholungen durchgeführt und die Ergebnisse in % des Trockengewichts ausgedrückt. Außerdem wurden vier Wiederholungen des gesamten Ca als Kontrolle durchgeführt.

3. Ergebnisse

3.1. Klason Lignin

Tabelle 9

Klason Lignin in % des Trockengewichts von ruhenden Trieben

Bitt.	M XI	M II	M IV	M IX
27,40	24,80	25,64	20,70	35,55

a) Es konnten nach dem t-Test gesicherte Unterschiede von M IX mit allen anderen Klonen ($P < 1\%$) und vom M IV mit der Sämling Bittenfelder ($P < 5\%$) gefunden werden.

b) Es konnte kein gesicherter Unterschied zwischen den Klonen M XI-II und IV ermittelt werden.

c) Die schwachwachsende Unterlage M IX hat den höchsten Gehalt an Klason Lignin, jedoch besteht keine allgemeine Beziehung zwischen Klason Ligningehalt und Wuchsstärke.

d) Die einzelnen Unterlagen zeigen eine große Streuung in ihren Werten, am stärksten, wie erwartet bei dem Sämling.

3.2. Stickstoff

Am Anfang der Vegetationsperiode, also bei krautigen Trieben, ist der lösliche N-Gehalt am höchsten bei M XI. Dieser Unterschied verschwindet beim zweiten Datum und es ist umgekehrt in der Rinde am 12. Juli (Tabelle 10). Jedoch an der Spitze bleibt zwischen diesen beiden Typen dasselbe Verhältnis wie am Anfang der Vegetationsperiode (Tabelle 11).

Tabelle 10

Alkohollösliche Amino-N und Glucosegehalt in % des Frischgewichts

		N		Glucose	
		M XI	M IX	M XI	M IX
Gesamttrieb	3. Mai	0,098	0,056*	0,56	0,62
	31. Mai	0,080	0,071	0,36	0,38
Rinde	12. Juli	0,063	0,091**	0,52	0,86*
Xylem	12. Juli	0,073	0,081	--	--

* = Sicherung für $P < 5\%$; ** = für $P < 1\%$

Tabelle 11

Stickstoffgehalt an der wachsenden Triebspitze in % des Frischgewichts (28. Juli)

Typ	Gesamt- N	löslicher N **	unlöslicher N *	<u>löslicher</u> <u>unlöslicher</u>
Bittenfelder	0,76	0,132	0,631	0,23
M XI	1,26	0,203	1,058	0,19
M II	1,00	0,177	0,819	0,22
M IV	0,89	0,151	0,741	0,21
M IX	1,10	0,133	0,962	0,14

* = Sicherung für $P < 5\%$ (Varianzanalyse)

** = " " $P < 1\%$ (")

Das ist auf die Tatsache zurückzuführen, daß am ersten Datum der ganze Sproß praktisch nur aus der Streckungszone besteht. Er hat also noch keinen reiferen Holzteil. Deshalb ist er physiologisch und anatomisch mit Sproßspitzen späterer Termine vergleichbar. Dagegen am zweiten Termin, wo auch ganze aber reifere Triebe analysiert wurden, hat wahrscheinlich die Rinde und reiferes Gewebe den Unterschied kleiner gemacht und ein gesicherter Unterschied ließ sich dann nicht mehr ermitteln.

Zu dem späteren Termin, wenn eine Trennung der Rinde vom Xylem möglich war, zeigt aber der M IX einen höheren Gehalt an löslichem Stickstoff und auch an Glucose. (Tabelle 10).

Obwohl es nach der Varianzanalyse, signifikante Unterschiede an gesamte und unlöslichem Stickstoff gibt, besteht keine Korrelation zwischen diesen Werten und der Starkwüchsigkeit. Jedoch besteht eine Tendenz einer Zunahme an löslichem Stickstoff mit zunehmender Wuchskraft der Typen. Der Sämling dagegen hat so wenig löslichen Stickstoff wie M IX.

In den löslichen/unlöslichen N-Verhältnissen gibt es signifikante Unterschiede nach dem t-Test zwischen M IX und allen anderen Klonen ($P < 1\%$) aber nicht mit Bittenfelder. Hier ist auch keine Korrelation zwischen den Typen zu beobachten.

Der qualitative Unterschied der Aminosäurezusammensetzung von den ganz jungen Sprossen ist nicht groß genug, um Folgerungen in ihrer Beziehung mit dem Wachstum zu ziehen (Abb. 31-32).

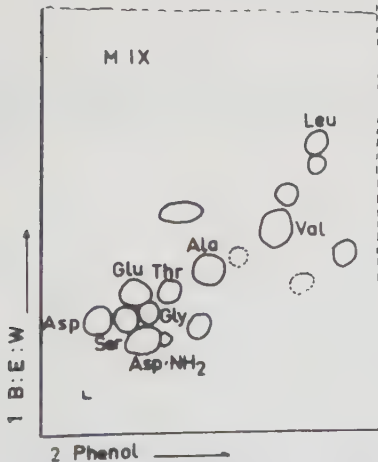


Abb. 31: Dünnschicht-Chromatogramm der löslichen N-Fraktion von jungen Trieben (M IX)

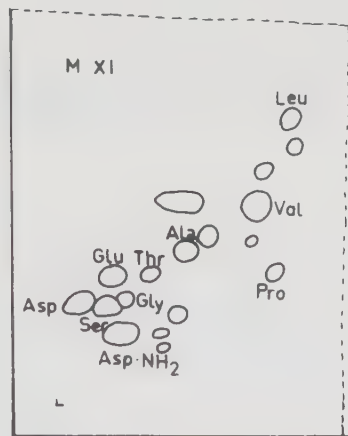


Abb. 32: Dünnschicht-Chromatogramm der löslichen N-Fraktion von jungen Trieben (M XI)

Im Xylemextrakt (2. Sept.) (Abb. 33-34) wurde es nötig, eine doppelte Materialmenge von M XI auf die Platte zu übertragen, um eine ähnliche Intensität der Flecken zu erhalten. Somit wurden quantitative Unterschiede der gesamten Aminosäuren gefunden, was die analytischen Bestimmungen der löslichen N-Fraktion bestätigt, wobei M XI (starkwachsende Unterlage) einen niedrigeren Gehalt in den reiferen Teilen des Sprosses hat.

Hier gibt es außerdem auch qualitative Unterschiede. Es wurde kein Prolin im Extrakt vom M XI gefunden. Das soll

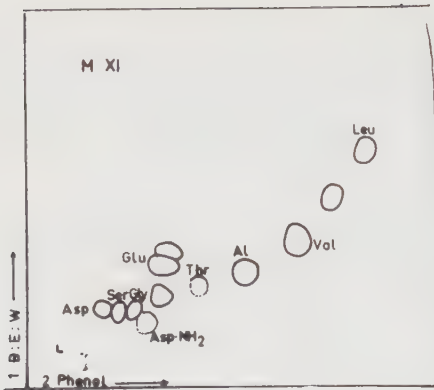


Abb. 33: Dünnschicht-Chromatogramm der löslichen N-Fraktion vom Xylem-Extrakt (M XI)

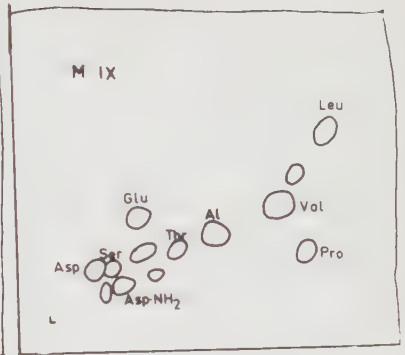


Abb. 34: Dünnschicht-Chromatogramm der löslichen N-Fraktion vom Xylem-Extrakt (M IX)

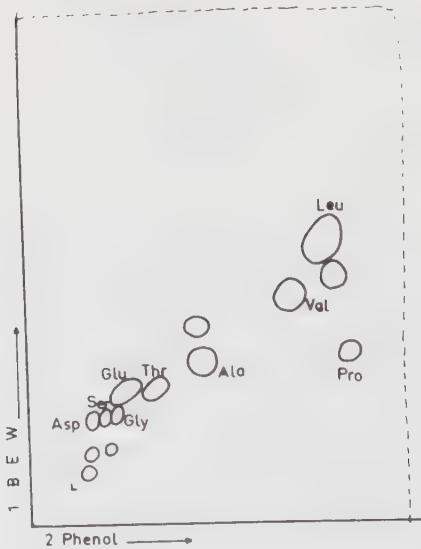


Abb. 35: Dünnschicht-Chromatogramm von Protein-Hydrolysat vom Xylem (M IX)

nicht heißen, daß im Xylem kein Prolin vorhanden wäre, sondern eben bedeutend weniger als bei der schwachwachsenden Unterlage.

Genau über der Glutaminsäure erscheint bei M XI eine Verbindung, die auch amphoteren Charakter haben muß (eluierbar mit NH_4OH von Dowex 50), und die nach dem Besprühen mit Ninhydrin gelb erscheint. Zuerst, lag die Annahme nahe, daß es sich um eine andere Form des Prolins handeln könnte. HULME et al (1954) finden Methylprolin und Methylhydroxyprolin (HULME, 1954) in Apfelfrüchten. Diese beiden methylierten Aminosäuren sind gelb-orange mit Ninhydrin und blau mit Isatin. Jedoch liegt die gelbe Verbindung bei einem anderen Rf-Wert und hat negativ auf Isatin geantwortet. Man kann vermuten, es könnte ein Peptid mit niedrigem Molekulargewicht sein.

Nach der Intensität und Größe der Flecken erscheint bei M XI etwas weniger Asparagin als bei M IX, und M XI hat mehr Serin sowie M IX mehr Asparaginsäure.

Im Proteinhydrolysat vom selben Material (Xylem, 2. Sept.) wurde, ausgenommen das Prolin, kein Unterschied beobachtet. In diesem Falle hat M IX, wie in der löslichen Fraktion, mehr Prolin als M XI.

3.3. Peroxydase und saure Phosphatase-Aktivität

Die Aktivität der Peroxydase ist bei jeder Unterlage etwas verschieden. Wie man aus der Tabelle 12 sieht, ergab sich für M XI der niedrigste Wert (Signifikanz mit M IV = $P < 1\%$ und mit M IX = $P < 5\%$) und für M IV der höchste (Signifikanz mit M IX = $P < 5\%$).

In der Phosphatase-Aktivität zeigt M IX den kleinsten Wert, jedoch wurde keine Signifikanz zwischen den Werten errechnet.

In der Streckungszone ergibt sich also keine Korrelation zwischen diesen Merkmalen und der Wüchsigkeit.

Tabelle 12

Relative Werte der Peroxydase- und saueren Phosphatase-Aktivität von der Streckungszone verschiedener Apfelsprosse (Mittelwert aus 4 Wiederholungen)

	Bitt	M XI	M II	M IV	M IX
Peroxydase ^{a)}	0,22	0,15	0,26	0,31	0,23
Phosphatase ^{b)}	--	0,22	0,22	--	0,16

^{a)} Absorptionsunterschied nach 3 min

^{b)} Extintionswerte gegen Leerwert nach 30 min

3.4. Phenole

Die chromatographische Trennung der phenolischen Substanzen erfolgte auf DC-Cellulose schärfer und schneller als auf Papier. Auch die nachweisbare Menge ist auf DC-Platten kleiner.

Eine Übersicht der phenolische Verbindungen von der Triebsspitze der verschiedenen Unterlagen gibt Abb. 36 -39

Nach den Eigenschaften der Verbindungen, die in der Tabelle 13 angegeben sind und durch Rf-Vergleich mit authentischen Substanzen wurden die folgenden Verbindungen identifiziert: Phloridzin, Isoquercitrin, Hyperin, Ferulasäure, p-Cumarsäure, p-Cumarsäureester und Chlorogensäure.

Eine alkalische Hydrolyse der Verbindungen gibt folgende Produkte:

Isoquercitrin = Quercetin + Glucose
 Hyperin = Quercetin + Galactose
 Flecke N^o 7 = p-Cumarsäure

M II ist am ärmsten an Phenolen, wenn man als Vergleichsbasis das Phloridzin nimmt, und M IV hat am meisten Phenole.

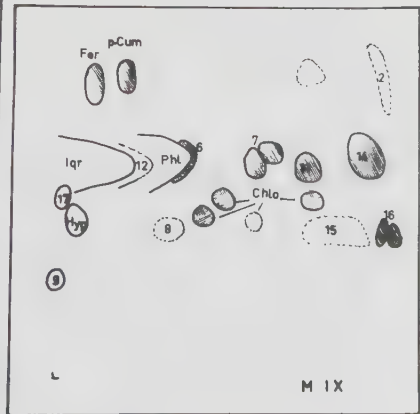
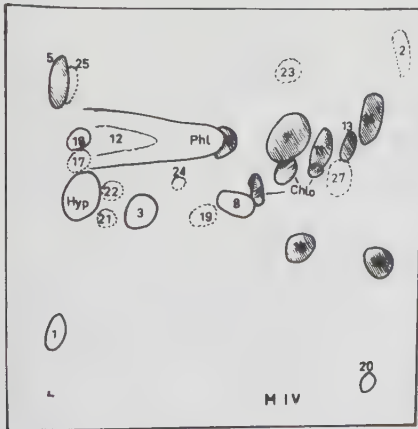
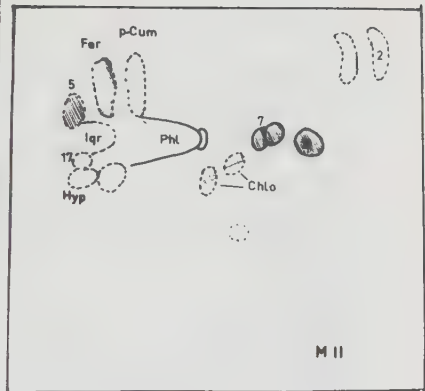
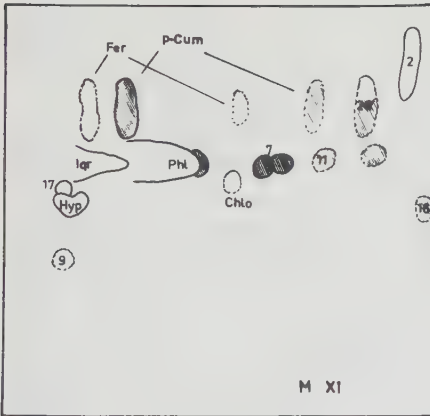


Abb.36-39: Übersicht über die chromatographisch getrennten Verbindungen von Apfelklonen. Phl=Phloridzin; Fer=Ferulasäure; p-Cum=p-Cumarsäure; Iqr=Isoquercitrin; Chlo=Chlorogensäure; Hyp=Hyperin; 7=p-Cumarsäureester; 12=vermutlich Quercitrin (nach Rf-Werte); 17= vermutlich Quercetin (nach Rf-Werte). (Schattierte Flecken = blau fluoreszierend unter UV-Licht).

Tabelle 13

Nachweisreaktionen der gefundenen phenolische Verbindungen an der Triebsspitze

Verbindungen	UV 254nm	UV 366nm	UV+NH ₃	AlCl ₃	NaOH	Flavon- reagenz	p-Dimet. am-benz	Vanillin- reagenz
Phloridzin	d.braun	-	gelb	h.gelb	or.br	orange	gr.blau	rot
Isoquercitrin	d.braun	d.braun	gelb	gelb	gelb	orange	-	-
Hyperin	d.braun	d.braun	gelb	gelb	gelb	orange	-	-
p-Cumarsäure	dunkel	-	blau	-	-	-	-	-
Ferulasäure	-	blau	blau	-	-	-	-	-
Chlorogensäure	-	blau	gr.gelb	-	-	-	-	-
7	dunkel	-	blau	-	-	-	-	-
5-6-11-13-14 15-16	-	-	blau	-	-	-	-	-
3	-	-	gelb	-	gelb	orange	-	-
1	gelb	gelb	gelb	-	-	-	-	-
17-18	-	-	-	gelb	gelb	orange	-	-
12	d.braun	d.braun	gelb	gelb	gelb	orange	-	-
19	-	-	-	gelb	-	orange	gr.blau	-
22	-	-	-	-	-	-	gr.blau	-
25	-	-	-	-	-	-	gr.blau	-
24	-	-	-	-	-	orange	-	-
27	-	-	-	-	-	h.blau	-	-
9	-	blau	orange	-	-	-	-	-

d.braun = dunkel braun; gr.gelb = grün gelb; h.gelb = hell gelb; or.br. = orange braun
gr.blau = grau blau

Der Gehalt an Phloridzin ist sehr hoch im Verhältnis zu den anderen Phenolen. Das verschiebt die Rf-Werte der anderen Verbindungen und erschwert einen Vergleich. Es wurden außerdem Variationen in der Intensität der Flecken zwischen den Wiederholungen mit demselben Typ gefunden.

Eine quantitative Serien-Analyse der einzelnen Phenole läßt sich sehr schwer durchführen. Um das UV-Spektrum (Abb. 40-42) als annehmbares Zeichen der chemischen Reinheit einer Verbindung zu haben, war es notwendig, eine Reinigung der Substanzen wenigstens durch drei verschiedene Laufmittel durchzuführen. Außerdem sind manche Phenole nur in Spuren anwesend.

Von den saueren Phenolen überwiegt die p-Cumarsäure in allen Sorten (frei Form und Esterform). Chlorogensäure wurde nur in Spuren beobachtet und ist in M II und XI kaum nachweisbar.

Nach Fleckengröße und Farbintensität haben die schwach-wachsenden Unterlagen M IX und IV mehr phenolische Säuren und andere nicht identifizierte Stoffe.

Vorversuche, um die Wirkung der gefundenen Verbindungen auf das Wachstum zu untersuchen, sind in der Tabelle 14 dargestellt.

Dafür wurde die äquivalente Menge von einzelnen Flecken oder Fleckengruppen von 1 und 1/2 Triebsspitze (4 cm) von M IX zusammen mit dem Cellulosenpulver des Chromatogramms jedem Kulturgefäß (15 ml) zugegeben und 2 Monate in Rotationskultur gehalten (siehe Material und Methode bei Gewebekultur).

Tabelle 14

Wirkung von Phenolen wachsender Triebsspitzen von M IX auf das Kalluswachstum von M II in Rotationskultur (mg Frischgewicht nach 8 Wochen)

Triebsspitze	Phloridzin	15 + 10	9	Hyperin	Ferula- + Cumarsäure
1/2	50,4	39,3	40	50,4	-
1	48,3	27,2	29	50,4	40,7

(Chlorogensäure, Flecken Nr 8; und 7 + 11 + 14 sind durch Infektion ausgefallen)

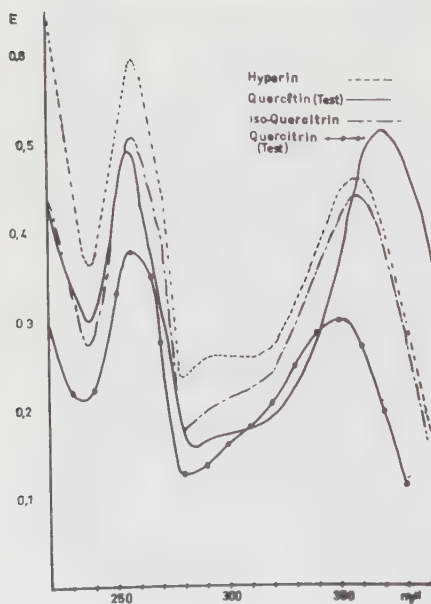
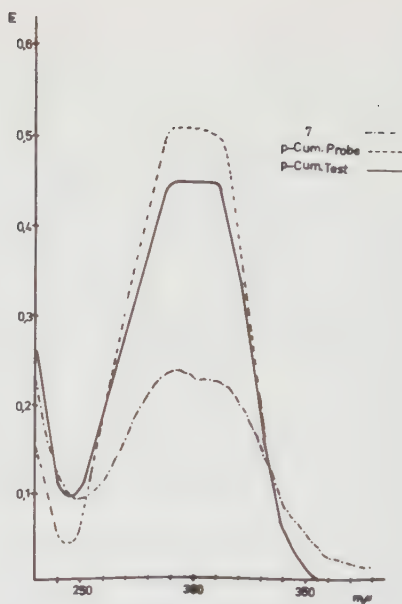
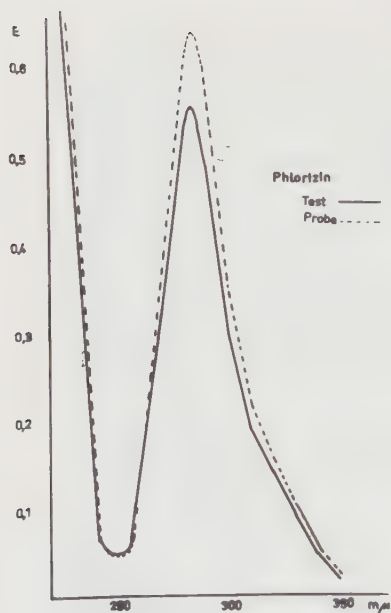


Abb. 40-42: Absorptionsspektren von phenolischen Verbindungen.

Trotzdem läßt sich eine unterschiedliche Wirkung der verschiedenen Verbindung ersehen.

Für Phloridzin gibt es keinen Unterschied zwischen den Konzentrationen und zwischen Phloridzin und Hyperin auch nicht. Wenn man diese Werte als Bezugswerte nimmt, dann ergibt sich eine Wachstumshehmung der Verbindungen 15 + 16 und 9. Die Hehmung war auch proportional zu der Konzentration (44% bei der höchsten Konzentration).

Beide Verbindungen sind noch nicht identifiziert.

3.5. Trennung der Ca-Faktionen

Die Summe von Ca-Faktionen stimmt mit der gesamten Ca-Analyse überein, was keinen Verlust im Extraktionsverfahren bedeutet.

Bei der wasserlöslichen Faktion gibt es einen signifikanten Unterschied ($P < 5\%$). Wenn dieser Wert als Prozentsatz des gesamten Ca berechnet wird, erhöht sich der Unterschied und der Signifikanzgrad ($P < 1\%$) (Tabelle 15).

Es gab keinen signifikanten Unterschied im gesamten Ca der Typen, und viel Streuung in den Wiederholungen der zweiten Faktion, woraus sich als Konsequenz eine Streuung der vierten Faktion ergibt. Deshalb konnte trotz der unterschiedlichen Werte eine Signifikanz nicht nachgewiesen werden. Man müßte erst diesen methodischen Fehler ausschalten und mehr Wiederholungen haben, um einen klaren Einblick in die Verteilung des Ca in diese beiden Faktionen zu bekommen.

Tabelle 15

Ca-Faktionen in Sproßspitzen.

% satz des Trockengewichts. (% satz des gesamten Ca)

	H ₂ O	n NaCl	2% CH ₃ COOH	5% HCl	Summe Gesamt
M XI	0,104* (17,7)**	0,385 (65,4)	0,003 (0,5)	0,097 (16,5)	0,589 0,607
M IX	0,071 (11,0)	0,467 (72,6)	0,002 (0,3)	0,103 (16,0)	0,643 0,657

* = Signifikanz für $P < 5\%$

** = Signifikanz für $P < 1\%$

4. Diskussion

Der Ligningehalt von reiferen Trieben von Apfelbäumen ist ähnlich dem von anderen Gehölzen. Jedoch besteht keine Korrelation zwischen Ligningehalt und Wuchsstärke der verschiedenen Mälusklone. Die Ligninbildung benötigt eine große Menge an Kohlenstoffen und Energie, deshalb kann man sich vorstellen, daß sie von der Nettoassimilationsrate abhängt. RYUGO (1969) findet tatsächlich, daß ein schwachwachsender Sämling mehr Lignin und eine höhere Nettoassimilationsrate als ein starkwachsender Sämling hat. Jedoch wurde dieser Versuch mit verschiedenen Baumarten durchgeführt.

Bei Apfelbäumen fanden auch RUCK und BOLAS (1956), daß die Nettoassimilationsrate positiv mit der Wuchsstärke korreliert ist. Trotzdem berichtet GREGORY (1957), daß im Mai-Juni kein Unterschied, daß aber im September-Oktober eine Differenz vorhanden ist. Da M IX sein Wachstum früher abschließt, ist dieser Unterschied und der hier gemessene Ligningehalt von ruhenden Trieben wahrscheinlich nur eine sekundäre Erscheinung.

Vergleichende Werte des löslichen N an der Triebspitze zeigen direkte Beziehungen mit der Starkwüchsigkeit der Unterlagen. Schwachwachsende Klone haben weniger löslichen N.

Andere Autoren (siehe Literaturübersicht) haben jedoch in der Rinde das Gegenteil gefunden, was hier auch für dieses Gewebe bestätigt wurde.

Die hier gefundenen Werte für Glucose und derjenigen für die Kohlenhydrate nach MARTIN und WILLIAMS (1967) zeigen ähnliche Tendenzen. Die Anreicherung an löslichen Stoffen in der Rinde von schwachwachsenden Unterlagen könnte evtl. die Erklärung für die höhere elektrische Leitfähigkeit des Äthanol- und Wasserextraktes, sowie der ganzen Triebe, sein (TAPER et al. und TAPER u. LING, 1961).

Das Verhältnis der löslichen zu den unlöslichen N-Fraktion zeigt keine Beziehung mit der Wuchsstärke. Andererseits ergibt sich bei der löslichen Fraktion nach qualitativer Analyse der Aminosäurezusammensetzung kein we-

sentlicher Unterschied zwischen den Typen. Zudem hat der Bittenfelder so wenig löslichen N, wie M IX an der Triebspitze. Deshalb ist eine kausale Ursache des unterschiedlichen Wachstums im Stoffwechsel des Stickstoffs wenigstens mit groben Methoden nicht zu finden.

Obwohl es Angaben gibt, daß der Blutungssaft von M IX eine 2,6 mal höhere N-Konzentration als M XI haben kann (MEYER, 1964) hat M XI weniger N an der Triebspitze. Das läßt die Vermutung zu, daß eine unterschiedliche akropetale Verteilung des aufgenommenen N in der Pflanze der Fall sein könnte.

Die Typen zeigen ein unterschiedliches Spektrum an phenolischen Substanzen, wobei in schwachwachsenden Typen die Esterform von phenolischen Säuren vorherrscht. Die anderen Typen dagegen haben einen relativ größeren Anteil an freien Phenolen. Außerdem scheint auch bei den schwachwüchsigen Typen ein höherer Gehalt an Gesamt-Phenolen zu sein, was mit den Ergebnissen für Rinde von MARTIN und WILLIAMS (1967) übereinstimmt.

MARTIN u. STAHLY (1967) finden mehr Cumarsäure (nach Hydrolyse) bei M IX als bei M XVI, dagegen kaum einen Unterschied in Chlorogensäure, Kaffeesäure, Ferulasäure und p-Hydroxybenzoesäure.

An der Triebspitze wurde mehr Chlorogensäure in M IX und IV gefunden. Diese Verbindung hat eine synergistische Wirkung mit IES (TOMASZEWSKI, 1962; ZENK u. MÜLLER, 1963), deshalb wäre es möglich, daß sie eine fördernde Wirkung auf das Wachstum hat. Jedoch können hohe Menge an anderen Verbindungen wie z.B. Cumarsäure ihren günstigen Einfluß aufheben. Ob die ungleiche Verteilung der phenolischen Säuren (freie und Esterform), bei den Klonen eine physiologische Bedeutung hat, ist schwer zu sagen. NITSCH (1959) beobachtete, daß die Chlorogensäure (Kaffee-China-Säure-Ester) weniger toxisch und stärker synergistisch mit IES ist, als die Kaffeesäure.

Die phenolischen Säuren können aber auch mit dem Ligifizierungsprozess in Beziehung stehen, da Cumarsäure über

Kaffee- und Ferulasäure zu Sinapylalkohol führt, der eine Vorstufe des Lignins ist (NEISCH, 1968). KLÄMBT-(1961) diskutiert noch die Möglichkeit, daß die Glucoseester von phenolischen Säuren als Träger von Glucose für die Cellulosebiosynthese dienen könnten.

Interessant war, daß das Phloridzin, das als Hemmfaktor bekannt ist (s. Diskussion und Literaturübersicht, erster Teil) keinen oder wenigstensweniger Einfluß auf das Wachstum von Kallus hat als viel kleinere Mengen von wenigstens zwei anderen nativen Substanzen. Eine dieser Verbindungen (Nr 16) könnte evtl. mit der Wüchsigkeit der intakten Pflanzen in Beziehung sein.

Die hier angefangenen Vorversuche mit Gewebekultur sollten erst ergänzt werden, um weiteres über eine Rolle der Phenole auf das Wachstum diskutieren zu können. Es ist noch zu erwähnen, daß alkoholische Extrakte von reiferen Blättern von M IX nicht nur bestimmte Stoffe in der organischen Phase sondern auch in der saueren wässrigen Phase haben, die das Wachstum von Phloemexplantaten von Karotten hemmen.

Die Elastizität der Zellwände und Permeabilität der Membran ist durch Ca positiv beeinflusbar, was wichtig für das Längenwachstum und die Zellvermehrung des meristematischen Gewebes ist (MENGEL, 1968).

Physiologisch bedeutsam ist die Bindung von Ca an Pektinsubstanzen wie z.B. auch beim Pollenschlauchwachstum (MARSCHNER, 1969).

Im eigenen Versuch wurde in der Streckungszone von Trieben verhältnismäßig mehr Gehalt an Ca in der NaCl-Fraktion (ca. 70% des gesamten Ca), also in der Fraktion wo das Ca-Pektinat vorhanden ist, gefunden (s. Material und Methode). Hier könnte deshalb eine Beziehung des Ca zum Wachstum der Triebe bestehen.

Jedoch hat M IX, obwohl statistisch nicht gesichert, mehr Ca in dieser Fraktion.

Eine wesentliche Funktion des Ca^{++} ist sein Beitrag zum elektrostatischen Ausgleich der Zelle (MENGEL, 1968). Das ist der löslichen Fraktion, wo die organischen und z.T.

die anorganischen Salze des Ca^+ sind, zuzuschreiben.

KIRKBY und De KOCK (zit. von MENDEL, 1968) fanden, daß der Gehalt an Malat und Ca parallel verlaufen.

Der Hauptunterschied zwischen beiden Klonen besteht in dem Anteil an löslichem Calcium. M XI hatte sowohl in den absoluten Mengen wie im Prozentsatz des gesamten Calciums einen höheren Wert.

Es wäre interessant zu untersuchen, ob dieses höhere Niveau an Ca bei dieser Fraktion durch einen größeren pool von organischen Säuren oder evtl. anderen Verbindungen bedingt ist.

SCHEIDECKER (1968) beobachtet eine nicht nur stärkere Reduktion des Gehalts am gesamten Calcium, sondern auch eine völlig verschiedenen Verteilung dieses Elements zwischen verschiedenen Ca-Verbindungen, bei unterernährten Tomatenpflanzen. Blätter der normal ernährten Tomaten enthalten viel lösliches Calcium. Sie erklärt das teilweise durch eine Luxusanreicherung bei den Kontrollpflanzen. Jedoch bei Apfeltrieben hat M IX mehr Gesamt-Ca und weniger lösliches Calcium, was eine verschiedene physiologische Verwendung des Calciums und weniger einen Mangel in der Aufnahme des Elements der Bodenlösung bedeuten kann.

Eine höhere Genauigkeit bei der Extraktion der NaCl-Fraktion und der HCl-Fraktion wäre nötig, um eine bessere Analyse über die Bedeutung des Ca in diesen Fraktionen zu bekommen.

Die höhere Zahl an Ca-Oxalat Kristallen, die anatomisch im Mark gefunden wurde, läßt sich hier durch die chemische Analyse nicht bestätigen. Eine Erklärung dafür könnte sein, daß durch die ganze Triebspitze der Unterschied im Mark maskiert wird, da auch im Phloem und Rindenparenchym viel Ca-Oxalat vorhanden ist. Außerdem findet FEUCHT (1967) schon in den Terminalknospen einen Wert für Gesamt-Ca von 3,6 - 2,9% der Trockensubstanz (hier ca. 0,6%).

Dieser hohe Prozentsatz von Calcium in den Knospen, betrifft allerdings Kurztriebe und war zum größten Teil Oxalat.

Neben dem Ca sind es freilich noch zahlreiche andere Faktoren, welche das Streckungswachstum beeinflussen. Häufig beschrieben wird z.B. die oxydative Zerstörung von IES (RAY, 1958).

Obwohl GUR und SAMISH (1968) über eine negative Korrelation zwischen Wachstum der Unterlagen und der IES-Zerstörung durch Wurzel- und Sproßextrakte berichten, läßt sich nach dem eigenen Test für die Peroxydaseaktivität, die hier an der Streckungszone durchgeführt wurde, ein solches System nicht als Ursache des unterschiedlichen Wachstum verallgemeinern. Es könnte eine solche Tendenz zwischen M XI - II und IV geben, indessen nehmen sich der Sämling und M IX davon aus.

Kamerbeek (1956) findet ein höheres Peroxydaseniveau in Pflanzen mit Zwergwuchs und einen niedrigen Gehalt in riesigen Pflanzen in Verhältnis zu normalen. Trotzdem meint derselbe Autor, daß es fraglich ist, ob dieses Verhalten eine primäre oder nur eine sekundäre Erscheinung ist.

V. GEWEBE- UND INTERNODIENKULTUR

1. Literaturübersicht

Die in Vitro Kultur von Pflanzen wurde bereits mit unterschiedlicher Zielsetzung angewandt: als Biotest für Auxine (PHILLIPS und JONES, 1964) und Cytokinine (MILLER, 1963), und um das Wachstum, die Zelldifferenzierung, die Morphogenese sowie die Biochemie der Zelle (WHITE, 1954; REINERT, 1968; STEWARD, 1969) zu studieren.

Die umfangreiche Literatur über dieses Thema macht es notwendig, im folgenden nur diejenige zu besprechen, die im Rahmen des engeren Themas als wichtig erscheint. Vor allem die Organogenese bei Forstbäumen (HAISSIG, 1965, TORREY, 1966; WINTON, 1968 und WOLTER, 1968) kann für die hier untersuchten Bäume von Malus wertvolle Hinweise erbringen.

TRIPPI (1963) studiert die Fähigkeit zur Zellvermehrung bei vegetativen und reproduktiven Apfelsprossen.

EDWARD u. JONES (1964) untersuchten in Vitro den Einfluß der Gibberellinsäure auf die Morphologie des Apfelblattes. JONES (1965) prüft einen Xylemsaft-Extrakt auf Cytokinine über einen Wachstumseffekt von isolierten Sproßspitzen. In einem weiteren Versuch findet er eine fördernde Wirkung von Benzyladenin (BA) auf der Sproßdifferenzierung und -streckung (JONES, 1967).

Mit Knospenkultur befaßt sich DUTCHER (1968) und teilt mit, daß eine Zugabe von 5% an Saccharose und ein hohes Niveau an Vitaminen und Mikronährstoffen unter starker Lichtintensität besseres Wachstum der Sprosse verursacht. Ein Effekt von Indolessigsäure und Gibberellinsäure wurde nicht bemerkt oder wenn ja, dann negativ, was von PIENAZEK (1969) mit NAA und Gibberellin auch bestätigt wurde.

Man hat nicht nur mit unterschiedlichen Organen experimentiert sondern auch mit Geweben von verschiedenen Herkünften. So haben NITSCH (1967) und LETHAM (1969) Ge-

webe des Mesocarpes eines Apfels mit Erfolg kultiviert, und über Ernährungs- und Temperaturbedingungen von verschiedenen Apfelgeweben berichten kurz SAAD u. BOONE (1964).

Die Wachstumsprozesse sind durch zahlreiche Innen- und Aussenfaktoren zu beeinflussen.

Da viele Merkmale nur als sekundäre Konsequenz der Wachstumsrate der Gesamtpflanze erscheinen, ist ein komplettes Studium des Wachstumspotentials an intakten Unterlagen verschiedener Wuchsstärke sehr schwer.

Außerdem besteht ein Pflanzenteil aus vielen differenzierten Geweben mit verschiedenen Funktionen und Stoffwechseln, deren Zwischenbeziehungen eine Interpretation des Phänomens erschweren.

Deshalb ist es denkbar, daß ein Studium getrennter Organe, Gewebe oder Zellen weitere Aussichten für ein besseres Verstehen der Physiologie des Wachstums und der Differenzierung geben würde.

Das Wachstumspotential einer Pflanze ist oft nicht in der ersten Lebensphase manifestiert. Erst mit der Zeit tritt ein bestimmter Parameter des Wachstums in Erscheinung. Mit der Organ- und Gewebekultur wäre es möglich, unter artifiziellen Bedingungen dieses Wachstumspotential oder einen typischen morphogenetischen oder biochemischen Ausdruck zu induzieren, der mit dem späteren Wuchsverhalten der Bäume eine Beziehung haben könnte. So liesse sich hypothetisch eine Frühselektionsmethode als praktischer Zweck entwickeln.

Solange die eigenen Versuche liefen, wurde tatsächlich berichtet, daß sich das Wachstumspotential verschiedener Wuchsformen von Apfelunterlagen in Vitro bei einer bestimmten Nährstoff- und Hormonkonzentration erkennen läßt (MESSER u. LAVÉE, 1969).

In eigenen Untersuchungen sollte nun geklärt werden:

1. Das Wachstumspotential mehrerer Typen mit Gewebe- oder Organkultur.

2. Die Wirkung bestimmter Wuchsstoffkonzentrationen auf dieselben Kulturen.
3. Die Stärkesynthese und ihre mögliche Beziehung zum Wachstum der Typen.
4. Morphogenetische Merkmale der Kallusse und ihre mögliche Beziehung zur Wüchsigkeit der zugehörigen Typen.

2. Material und Methode

Hier wird nur Allgemeines besprochen. Die Einzelheiten und Abweichungen werden zusammen mit den Ergebnissen behandelt.

2.1. Gewebekultur

Gewebe aus der Kambialzone einjähriger und wachsender Triebe wurden in verschiedenen Jahreszeiten entnommen.

Die Triebe wurden zuerst oberflächlich mit ATA gewaschen, dann in einer Impfkammer und unter sterilen Bedingungen die Epidermis und das Rindenparenchym etwa bis zu den Bastfasern entfernt, und dann aus der Kambialzone keilförmige Streifen ca. 2 cm lang, 1 mm breit und 1 mm tief entnommen, auf eine Petrischale mit feuchtem Filterpapier mit einer Lösung von 3 % Polyvinylpyrrolidin gelegt und hier in ca. 1 mm lang geschnitten. Auf diese Weise bekommt man relativ homogene Stücke von 1-2 mg die einen kleinen Teil von Phloem und Xylem enthalten. Aus einem Internodium bekommt man ohne Schwierigkeit 50 Explantate, was eine bessere Standardisierung des Materials erlaubt und die Variabilität durch eine unterschiedliche Position in den einzelnen Trieben eliminieren läßt.

Kleine Explantate haben außerdem den Vorteil eines geringen Einflusses der endogenen Nähr-, Wuchs- oder Hemmstoffe die das Wachstum oder die Differenzierung beeinflussen könnten. Hier ist zu erwähnen, daß eine Wachstumsstreuung in Abhängigkeit zu dem Nährstoffgehalt des Initialgewebes bestimmt wurde (NEUMANN u. STEWARD, 1968).

Die Kultur erfolgte in einem flüssigen Nährmedium in Reagenzgläsern (15 cm lang x 2,5 cm Ø). Als Trägerstoff wurde Chromatographiepapier verwendet (WHITE, 1954; HELLER, 1949).

Nach Vorversuchen wurde die MURASHIGE u. SKOOG (1962) Nährlösung gewählt; sie hat die Vorteile, daß ihre chemische Zusammensetzung bekannt ist und sie brachte im

Vergleich zu den anderen bessere Ergebnisse.

Als Auxine wurden 2,4-Dichlorophenoxyessigsäure (2,4-D), Indolyl-3-essigsäure (IES) und Naphtyl-essigsäure (NAA) geprüft, wobei die letzte am geeignetesten erschien. Von den Cytokinine Benzyl-Aminopurin (BA) und Furfuryl-Aminopurin (Kinetin) wurde die erste gewählt.

Die Kultur wurde in Dunkelheit bei $26^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ oder belichtet mit Gro-Lux Fluoreszenz Lampen aus einer Entfernung von 15 cm bei Raumtemperatur durchgeführt.

2.2. Internodienkultur

Es wurden wachsende Sproßspitzen aus 2-jährigen Bäumen entnommen. Das Material wurde dann mit einem Netzmittel (Pril) gewaschen und das erste Internodium dessen gesamte Länge 2 mm war, ohne Blätter und ohne Knospen abgeschnitten.

Die Internodien wurden in Ca-Hypochlorit 5 min sterilisiert, danach mit sterilisiertem H_2O dest. gewaschen und in die Nährlösung eingebracht.

Die flüssige Nährlösung wurde wie bei der Gewebekultur vorbereitet. Die Abweichungen sind zusammen mit den Ergebnissen angegeben. Die Nährlösung enthielt keine Cytokinine. Es wurden 1 und 10 mg/l Gibberellinsäure (GA) und 0,1 - 1 und 10 mg/l NAA allein und in Kombination geprüft.

3. Ergebnisse

3.1. Gewebekultur

3.1.1. Wirkung des physikalischen Milieus

Die Gewebekultur in Vitro kann man in kolloidaler Lösung als Gel (mit Agar), oder in flüssiger Lösung sowohl durch zeitweiliges Untertauchen mittels einer Rotationsbewegung der Kulturgefäße als auch durch statische Kultur durchführen.

Obwohl keine quantitativen Bestimmungen durchgeführt wurden, geben die oben erwähnten Möglichkeiten folgende Befunde:

Das Wachstum der Kallusse (Volumen) auf Agarmedium ist am Anfang etwas langsamer als in der flüssigen Nährlösung in statischer Kultur, aber später wurde dieser Unterschied verwischt. Jedoch unterscheiden sich die Kallusse qualitativ. Während sich beim Agarmedium ein sehr lockeres, weiches und gelbes Gewebe mit kränklichem Aspekt ergibt, bekommt man auf Papier ein kompakteres Gewebe, weniger brüchig und heller gefärbt.

An der Stelle, wo der Kallus eingesetzt wurde, hat sich das Papier braun oder hell gelb gefärbt. Nach dem Phloroglucintest für Lignin bekommt man eine positive Reaktion in den gelbgefärbten Flecken (Abb. 43), jedoch nicht in den Braunen. Es gab keinen Unterschied zwischen den Unterlagen in diesen Merkmalen.

Die zweite Möglichkeit zur Durchführung der Kultur in flüssigem Nährmedium, also die Rotationskultur (Shakekultur) (Abb. 44), ergibt die längste Lag-Phase (7-10 Tage) während man bei den Explantaten auf Papier schon am 3. Tag eine Schwellung des Kambiums sieht. Jedoch hat das den Vorteil, daß das Gewebe homogen auf allen Seiten ernährt ist. Weil es in Bewegung ist, gibt es geringere Möglichkeiten zu einer polaren Gradientbildung im Kallus was ein homogenes Wachstum und weniger Streuung als in der statischen Kultur ergibt. Trotzdem, und abhängig von der Sorte, zerstückeln sich die Kallusse bei einigen Hormonkombinationen und es bilden sich Zellsuspensionen.

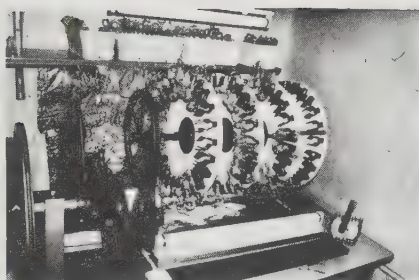
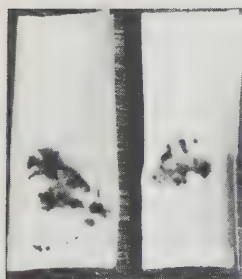


Abb. 43: (links) Phloroglucinpositives Abscheidungsprodukt vom Kallus auf dem Papier. Abb. 44: (rechts) Anlage zur Durchführung der Rotationskultur mit flüssigem Nährmedium.

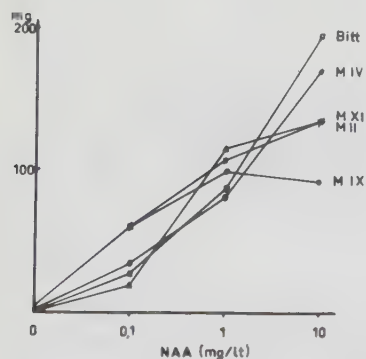
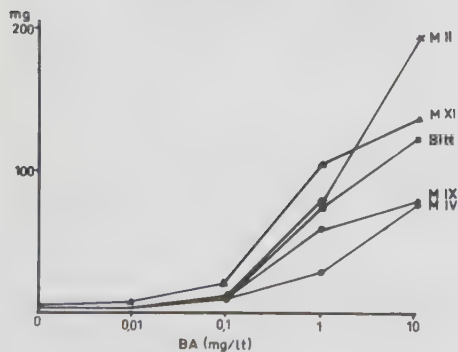


Abb. 45: Wirkung von NAA und BA auf das Frischgewicht vom Kallusgewebe (mg)



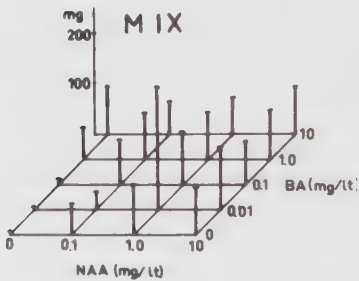
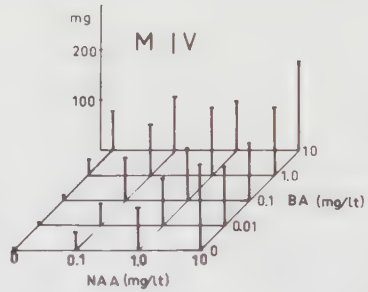
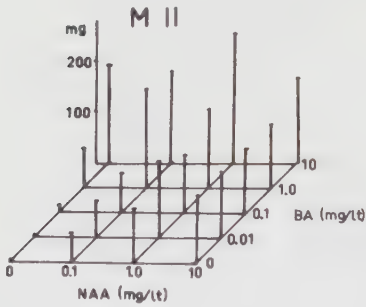
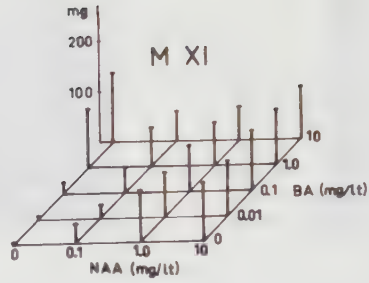
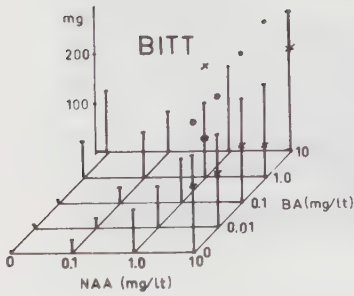


Abb. 46: Wirkung vom Auxin und Cytokinin auf das Frischgewicht von Kallusgewebe nach 38 Tagen in Kultur.

3.1.2. Wirkung von Auxin und Cytokinin auf das Frischgewicht der Explantate.

Das Wachstumspotential der Explantate wurde bei den folgenden Behandlungen getestet: NAA = 0 - 0,1 - 1 - 10 - 100 mg/lt, BA = 0 - 0,01 - 0,1 - 1 - 10 mg/lt einzeln und kombiniert. Das Material wurde am 3. April von einjährigen Trieben entnommen. Es wurden 8 methodische und 2 biologische Wiederholungen pro Klon mit einer Kulturzeit von 38 Tagen durchgeführt.

Das Auxin und das Cytokinin per se stimulieren das Wachstum der Explantate in den 5 Unterlagen, jedoch ist die Antwort von jeder Unterlage verschieden (Abb. 45).

Bei M XI haben vergleichende Konzentrationen von NAA und BA keine signifikanten Unterschiede ($1 \text{ mg/lt NAA} = 5,3 \times 10^{-7} \text{ M}$; $1 \text{ mg/lt BA} = 4,43 \times 10^{-7} \text{ M}$), während bei M IX - IV u. Bittenfelder die Wirkung von NAA größer ist als die von BA und M II erst bei 10 mg/lt BA stärker wächst als mit NAA.

Mit Ausnahme von M IX bei NAA zeigen alle die getesteten Unterlagen eine Steigerung des Wachstums bis 10 mg/lt sowohl mit Auxin wie auch mit Cytokinin wenn sie einzeln gegeben wurden. Da bei 100 mg/lt NAA ein sehr starker Ausfall der Explantate vorkommt, wurde keine Auswertung gemacht. Diese hohe Konzentration scheint völlig unphysiologisch zu sein.

Beispielweise überleben bei M IV (100 mg/lt NAA + 1 mg/lt BA) 5 von 16 Explantaten. Sie haben ein mittleres Frischgewicht von 270 mg mit einem Trockengewicht von kaum 3,5%.

Es läßt sich aus den Wechselwirkungen zwischen NAA und BA keine allgemeine Regel erkennen, die mit der entsprechenden Wüchsigkeit der Unterlagen in Beziehung sein könnte (Abb. 46).

Bei M XI gibt es keinen Synergismus zwischen den Phytohormonen, während bei den anderen Unterlagen mehr oder weniger positive Interaktionen vorkommen.

Einzigartig verhält sich M IX. Er hat einen sehr begrenzten Optimumbereich, der signifikant aus allen anderen Behandlungen herausragt ($P < 5\%$ gegenüber dem nächsten niedrigen Wert).

Tabelle 16

Signifikanz nach einer dreifachen Varianzanalyse für das Frischgewicht von Explantaten verschiedener Unterlagen.^{a)}

Variabilität	Signifikanz				
	Bitt.	M XI	M II	M IV	M IX
Zwischen NAA	***	***	***	***	***
" BA	***	***	***	***	***
" Bäumen	***	-	-	-	*
Wechselwirkungen					
NAA / BA	-	***	***	**	***
NAA / Baum	***	*	-	-	*
BA / Baum	*	-	-	-	-
NAA / BA / Baum	*	*	-	-	-

*** = Signifikanz für $P < 0,1\%$

** = " " $P < 1,0\%$

* = " " $P < 5,0\%$

- = nicht signifikant

M II hat den höchsten Wert bei 1 mg/l NAA + 10 mg/l BA, aber er zeigt einen gesicherten Unterschied (für $P < 5\%$) erst mit dem 4. niedrigsten Wert und hat einen großen Bedarf an Cytokinin (Abb. 46).

Tabelle 16 stellt das Ergebnis einer dreifachen Varianzanalyse für jede Unterlage dar.

Der Sämling Bittenfelder hat einen sehr hohen und der M IX noch einen gesicherten Unterschied zwischen beiden biologischen Wiederholungen, also die Bäume haben sich

a) Die Varianzanalyse nach RENNER (1970) wurde auf dem Computer durchgeführt. Für die Vorbereitung des Programmes möchte ich Herrn Dipl. Agraring. E. Forche, herzlich danken.

nicht einheitlich verhalten. Nur beim Bittenfelder gibt es keinen gesicherten Unterschied bei den Wechselwirkungen zwischen den zwei Phytohormonen, aber das ist vermutlich durch die große Streuung zwischen den Bäumen verursacht.

Nach der Varianzanalyse ist außerdem festzustellen, daß die Wachstumsstreuung zwischen den biologischen Wiederholungen zum größten Teil als eine Antwort auf NAA und weniger auf BA zu werten ist.

3.1.3. Wirkung von Auxin und Cytokinin auf das Trockengewicht der Explantate

Das Wachstum im chemischen Sinn, also die Zunahme von Trockensubstanz, ist weniger als das Frischgewicht durch die Behandlungen beeinflusst worden. Es läßt sich, aus diesen Werten die Wuchsstärke der Mutterpflanzen ebenfalls nicht erkennen (Tabelle 17).

Die Wechselwirkungen von beiden Wachstumsregulatoren haben anders auf das Trockengewicht als auf das Frischgewicht gewirkt (verschiedene höchste Werte).

Ein Merkmal des Gewebes gibt der Prozentsatz an Trockengewicht. Diese Daten sind in der Tabelle 17 dargestellt und sie wurden ohne das original Explantat ermittelt.

Der Prozentsatz an Trockengewicht neigt mit Ausnahme von M XI zu einer negativen Beziehung mit der Wuchsstärke der Unterlage bei 1 mg/lt NAA + 1 mg/lt BA; 10 mg/lt NAA; und 10 mg/lt NAA + 1 mg/lt BA (Tabelle 17).

Es gab eine negative Beziehung zwischen dem Frischgewicht und dem Prozentsatz an Trockengewicht.

Das wurde beim Sämling und M II am deutlichsten. Dagegen ist diese Beziehung sehr schwach und nicht signifikant bei M XI. Die Korrelationskoeffizienten zwischen beiden Merkmalen sind in der Tabelle 18 wiedergegeben.

Tabelle 17

Abhängigkeit des Trockengewichts von Kallusgewebe von der NAA- und BA-Konzentration (mg)

NAA - BA (mg/Lit)	R1+R		M XI		M II		M IV		M IX	
	Tr. G.	%	Tr. G.	%	Tr. G.	%	Tr. G.	%	Tr. G.	%
0	1,9	-	1,6	-	1,5	-	1,3	-	1,3	-
0	2,4	23,6	1,7	11,1	1,6	17,8	1,7	15,8	1,5	16,0
0	2,2	15,7	4,1	10,6	3,3	16,7	2,3	12,8	2,9	22,2
0	7,7	2,0	11,1	8,9	9,5	10,7	4,9	7,6	7,0	9,8
0	8,7	6,3	10,5	6,9	12,5	6,4	8,3	9,4	7,4	8,9
0,1	4,9	16,5	8,1	16,7	9,2	13,5	6,7	15,7	7,6	11,1
0,1	4,0	16,1	5,1	14,3	11,5	14,7	5,7	11,0	5,2	12,4
0,1	5,6	13,6	7,9	14,1	10,9	22,8	12,4	13,1	12,3	13,2
0,1	8,0	8,2	9,4	10,7	19,2	9,5	13,2	12,2	10,6	11,1
0,1	6,3	8,1	6,1	8,6	12,5	6,3	11,0	9,3	6,2	8,5
1	7,9	8,2	12,7	11,4	11,7	9,9	17,1	12,0	11,5	10,7
1	7,5	7,9	9,0	9,2	13,8	6,4	11,7	11,4	15,5	5,8
1	8,2	8,6	10,4	10,4	12,5	10,0	13,0	11,7	11,5	10,3
1	7,8	4,6	8,7	9,4	11,5	6,7	12,1	8,8	9,6	9,5
1	9,3	4,9	6,2	7,7	12,7	4,5	7,4	6,5	5,4	6,2
10	9,5	4,3	10,2	8,1	10,0	6,7	14,9	8,1	8,9	14,5
10	10,0	4,9	8,9	7,4	8,8	5,7	10,9	8,5	9,8	7,0
10	8,8	3,9	10,1	7,9	10,1	7,2	11,3	6,1	8,2	7,6
10	8,6	4,2	9,5	8,0	8,0	5,4	10,1	6,6	6,3	7,2
10	9,9	4,4	7,6	6,5	8,0	4,2	9,1	4,5	6,2	5,7

Tabelle 18

Korrelationskoeffizient (r) zwischen Frischgewicht und Prozentsatz an Trockengewicht von Kallusgeweben nach Behandlung mit Phytohormonen.

	Bitt.	M XI	M II	M IV	M IX
r =	-0,89***	-0,40	-0,82***	-0,68**	-0,65**

***; ** = siehe Tab. 16

3.1.4. Einfluß von der NAA- und BA-Konzentration auf die Teilungsaktivität.

Die Teilungsaktivität als Zellnummer pro Explantat ist in der Tabelle 19 dargestellt. Jeder Wert entspricht einen Mittelwert von 2 Explantaten wobei 8 bis 12 Zählungen pro Explantat von einer Zellsuspension in einem Hämatocytometer nach Beschreibung von STEWARD u. SHANTZ (1956), gemacht wurden.

Tabelle 19

Abhängigkeit der Teilungsaktivität (Zellnummer in Tausend/Explantat) von Kallusgewebe von der NAA- und BA-Konzentration nach 38 Tagen in Kultur.

NAA - BA mg/lit	Bitt	M XI	M II	M IV	M IX
0 - 1	335 (78)*	1.430 (139)	328 (32)	259 (26)	798 (57)
1 - 0,01	2.274 (117)	3.252 (117)	4.411 (189)	3.133 (93)	2.901 (148)
10 - 0,01	2.164 (165)	3.776 (119)	2.615 (128)	7.324 (198)	4.657 (187)
10 - 1	2.882 (351)	4.672 (115)	4.139 (180)	4.311 (161)	5.268 (103)
1 - 1	1.918 (97)	4.521 (65)	4.265 (163)	---	7.409 (115)

* () Frischgewicht der Explantate

Wie sich aus der Tabelle 19 erkennen läßt, haben die Unterlagen eine sehr verschiedene Teilungsaktivität bei derselben Phytohormon-Kombination. Der Sämling hat die niedrigste Zellzahl wenn man seinen Kallus mit gleichschweren Kallussen anderer Typen vergleicht. Dies bedeutet, daß der Sämling vermutlich die größeren Einzelzellen hat. Das wurde anatomisch oft bestätigt.

Die Teilungsaktivität ist bei keiner der untersuchten Behandlungen mit der Wüchsigkeit der Mutterpflanzen korreliert.

Aus der Tabelle läßt sich erkennen, daß bei einseitiger Applikation von Cytokinin größere Zellen gebildet wurden (niedrigere Zellzahl/mg).

3.1.5. Einfluß der NAA- und BA-Konzentration auf die Organogenese der Explantate

Nach drei Wochen Kultur bilden sich bei einigen Explantaten adventive Wurzeln und zwar bei M IV und M XI. In der Tabelle 20 ist die Anzahl bewurzelter Gewebe pro Behandlung zusammengestellt.

Tabelle 20

Abhängigkeit der NAA- und BA-Konzentration auf die Organogenese von Malus-Explantaten in der ersten Kultur

NAA - BA mg/l	Anzahl Explantate	Anzahl bewurzelter Explantate	
		M XI	M IV
0,1 - 0,00	16	-	1
1,0 - 0,01	16	1	6
1,0 - 0,10	16	-	1
10,0 - 0,01	16	-	3
10,0 - 0,10	16	-	6

Mit anderen Wuchsstoffkombinationen ist eine Organogenese der Explantate mißlungen.

In der ersten Kultur der Explantate zeigt M IV die höchste Fähigkeit zur Organogenese. Wenn der Kallus eine längere Zeit in Kultur bleibt oder noch besser, wenn er geteilt wird und in einem frischen Nährmedium weiter kultiviert wird, bekommt man noch bessere und noch mehr Wurzeln bei den genannten beiden Unterlagen und auch bei M IX. Eine Bewurzelung von Kallus in vitro-Kultur ist bei dem Sämling und bei M II noch nicht gelungen.

3.1.6. Einfluß von m-Inosit und anderen Vitamine auf das Wachstum und die Organogenese von Explantaten.

Da das MURASHIGE u. SKOOG Nährmedium 100 mg/lit m-Inosit, 0,5 mg/lit Nikötinsäure und Pyridoxin und 0,1 mg/lit Thiamin enthält, ist es interessant, die Essentialität und Wirkung dieser Vitamine auf das Wachstum und die Organogenese zu untersuchen.

Dafür wurde Material von M XI und M IV am 27. II entnommen und mit der optimalen Wuchsstoffkonzentration für die Wurzelbildung kultiviert (1 mg/lit NAA + 0,01 mg/lit BA).

Die Ergebnisse sind in der Tabelle 21 dargestellt.

Tabelle 21

Abhängigkeit von Frisch- u. Trockengewicht und Organogenese von der Vitamin-Konzentration (12 Explantate/Behandlung)

					M XI			M IV		
(mg/lit)					F.G.	T.G.	bewurzelte	F.G.	T.G.	bew.
m-Inosit	Nik.	Pyr.	Th.		mg	mg	Explantate	mg	mg	Exp.
100	0,5	0,5	0,1		94,2	7,48	1	109,1	9,56	2
50	"	"	"		71,9	5,51**	-	74,7	7,74	2
10	"	"	"		64,1**	6,21	-	94,2	8,27	3
0	"	"	"		67,3	5,54**	-	38,4**	5,07**	1
100	0,25	0,25	0,05		105,7	6,74	-	71,0	7,47	1
100	-	0,1	-		95,6	7,87	-	65,3*	6,3**	4

*, ** = siehe Tabelle 16

Das m-Inosit scheint essentiell zu sein. Bei M IV erreicht das Wachstum der Explantate im Medium ohne Inosit kaum 35 % im Vergleich mit der Kontrolle. Bei M XI hat das Inosit weniger Einfluß auf das Wachstum. Wegen der höheren Streuung hauptsächlich im Frischgewicht ist der Unterschied zwischen 0 und 100 mg/lit nicht statistisch gesichert. Trotzdem zeigt M XI auch einen Bedarf an Inosit. Aus diesem Versuch läßt sich nicht klar eine optimale Konzentration erkennen. Bei M IV scheint 10 mg/lit günstig für das Wachstum und die Organogenese zu sein.

Nikotinsäure und Thiamin sind bei M IV notwendig für ein gutes Wachstum, jedoch nicht für die Wurzelbildung. Andererseits, bei M XI scheint die Nikotinsäure und das Thiamin nicht essentiell zu sein, und es zeigt sich, daß wenigstens 0,1 mg/lit von Pyridoxin reicht.

3.1.7. Jahreszeitliche Wachstumsschwankung von Explantaten

Im Laufe dieser Arbeit wurde eine Jahrperiodizität in der Kallusbildung von Kambialgewebe von Malus erkennbar.

Die Zellvermehrung von Explantaten ist am stärksten in der Zeit des Knospenaustriebs und im Herbst.

Ende Februar wachsen M IV und M XI, jedoch nicht M IX. Das Ende dieser Periode liegt Ende Mai. Hier wächst noch M IX, aber nicht mehr M XI. Die zweite günstige Periode ist im Oktober/November.

Im Winter und im Hochsommer hat sich eine Zellvermehrung in Vitro von Kambialgewebe stets als schwierig erwiesen. Diese Unfähigkeit Kallus zu bilden wurde weder durch Wuchsstoff-Konzentrationen noch durch verschiedene Nährlösungen (von: WHITE, 1954; REINERT u. WHITE, 1956; WOLTER u. SKOOG, 1966; NEUMANN, 1965; JONES, 1965; MURASHIGE u. SKOOG, 1962 und Abweichungen) aufgehoben.

3.1.8. Wirkung der Nährstoffe auf das Wachstum von Explantaten.

Bei diesem Versuch sollte hauptsächlich geprüft werden, ob die Nährstoffverhältnisse des Nährmediums einen bedeutenden Einfluß auf das Wachstum der Explantate bewirken.

Hier wurde das von MURASHIGE u. SKOOG (M + S) und ein modifiziertes M + S Medium (m M + S) benutzt. Die Verhältnisse zwischen N-Ca-Mg-K-P in der m. M + S entsprechen annähernd den Verhältnissen, die von MASON (1958) für Apfelpfritzen angegeben wurden (NH_4NO_3 , 1.235 mg/l; $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, 121 mg/l; MgSO_4 , 141 mg/l; KH_2PO_4 , 198 mg/l; KNO_3 , 169 mg/l).

Es wurde außerdem die Wirkung von Agar und Kinetin geprüft.

Die Ergebnisse sind in der Tabelle 22 wiedergegeben.

Tabelle 22

Abhängigkeit des Kallus-Frischgewichts (mg) von den Nährstoffen, von Cytokinin und Agar (Material vom 21. X.)

	BA	Kinetin	NAA		M XI	M IX
M + S	0,01 0,1	- -	1 1		39,5 (w) 36,8	- 13,4
1 + m M+S	0,01 0,1	- -	1 1	*	25,9 (w) 43,2 ***	- ***
2 + m M+S	0,01 0,1	- -	1 1		41,0 47,7	12,5 15,4
M+S Agar	0,01		1		22,1	
1 + m M+S	-	0,01	1		30,4	

(w) = Wurzeln

Bei diesem Versuch (21. Okt.) läßt sich das Kambialgewebe vom M IX in Vitro schlecht vermehren, und es stirbt ein hoher Prozentsatz der Explantate. Bei einem Vergleich des Frischgewichts von M XI von diesem Versuch mit demjenigen vom April (siehe 3.1.1. bei 0,01 mg/lt BA = 88,1 und bei 0,1 mg/lt BA = 91,4 mg) sieht man klar, daß auch dieser Typ schlechte innere Voraussetzungen für ein gutes Kalluswachstum hat.

Es gab einen gesicherten Unterschied zwischen den Nährlösungen, wobei 2 x m M + S besser zu sein scheint als M + S.

Der Unterschied zwischen den BA-Konzentrationen im Frischgewicht ist zweifelhaft. Es gibt nur einen gesicherten Unterschied bei 1 x m M + S, jedoch ist der höchste Wert (43, 2 mg) nur aus 6 Explantaten ermittelt, da 14 abgestorben waren.

Der Agar scheint weniger günstig für das Wachstum zu sein als das flüssige Nährmedium.

Zwischen BA und Kinetin wurde kein gesicherter Unterschied im Wachstum gefunden.

Weder mit Kinetin bei 0,01 noch mit BA bei 0,1 mg/lt entstanden bewurzelte Explantate.

Eine Prüfung der Mg-Konzentration bei M IV im M + S Nährmedium mit 1 mg/lt NAA + 0,01 mg/lt BA ergibt das folgende Ergebnis (Tabelle 23.)

Tabelle 23

Einfluß von Mg auf das Wachstum (in mg) und die Organogenese (Material vom 28. X.)

	F.G.	T.G.	Anzahl Explantate	bewurzelte Explantate
1 x Mg	70	7,9	17	7
2 x Mg	65	7,6	17	2
3 x Mg	54	6,6	20	3

Eine Erhöhung der Mg Konzentration ($1 \cdot x = \text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 370 mg/lit) hat keinen positiven Einfluß auf das Wachstum, im Gegenteil scheint dies eine negative Wirkung, sowohl auf das Frischgewicht als auch auf die Wurzelbildung zu haben.

Die Gewebekultur in Vitro zeigt auch im Rotationsverfahren bei 1 mg/lit NAA + 0,1 mg/lit BA, wie schon für die statische Kultur beschrieben, keine Beziehung mit der entsprechenden Wuchsstärke der Mutterpflanze (Tabelle 24).

Tabelle 24

Wachstum (in mg) von Kallusgewebe nach 36 Tagen in Rotationskultur (Material vom 28. X.).

	Bitt	M XI	M II	M IV	M IX
F.G.	23,5	25,8	71,3	77,9	14,8
T.G.	1,6	3	5,7	7,7	2,8

M IV und II haben das beste Wachstum, trotzdem beträgt es nur bis zu 70% des Wachstums der statischen Kultur mit dem Material vom April.

3.1.9. Anatomischen Untersuchungen von Adventivwurzeln aus Kallus.

Die Wurzelbildung aus Kallus vom Apfelgewebe erfolgte sowohl in der ersten Kultur nach der Trennung der Explantate von der Mutterpflanze als auch in Kallussen, die mittels periodischer Umsetzungen mehr als anderthalb Jahre kultiviert waren.

Sobald ein Wurzelprimordium zum Vorschein kommt (unter dem Binokular) wächst dann die Wurzel relativ schnell etwa 2-3 Wochen lang bis etwa 1 cm, dann hört ihr Längenwachstum auf.

Sehr oft bildet sich aus der Rinde an der Basis der neugebildeten Wurzel ein lockeres und weiches Gewebe mit

sehr großen und stark vakuolisierten Zellen... Dieses Gewebe wächst und umfaßt die Wurzel (Abb. 47-48). Wenn solche Wurzeln in einem flüssigem Medium in Rotationskultur eingesetzt sind, trennt sich dieses lockere Gewebe von den Wurzeln und es bleibt das Apikalmeristem nur mechanisch durch das Gefäßsystem an den normalen Kallus gebunden. Trotz dieser physiologischen Isolierung ist die Wurzelspitze noch wachstumsfähig und demnach nicht vom Kallus abhängig.

Die Entdifferenzierung der adventiven Wurzeln kann aber auch unter dem Apikalmeristem erfolgen (Abb. 49).

Anatomische Untersuchungen zeigen, daß die Adventivwurzeln kein sekundäres Dickenwachstum haben. Ihr Durchmesser erreicht etwa 1-1,5 mm. Dagegen ist ihr Längenwachstum sehr veränderlich und es können Wurzeln bis zu 3 cm Länge beobachtet werden. Sie verzweigen sich gelegentlich (Abb. 50) und können normale Wurzelhaare bilden (Abb. 51).

Jedes Explantat kann mehrere Wurzeln bilden welche keinen Geotropismus zeigen (Abb. 52). Auch unter Licht wird der Geotropismus nicht immer induziert, und manche Wurzeln bilden Anthocyanine.

Eine Differenzierung von Sprossen, Embryoiden und ein besseres Wurzelwachstum ist trotz verschiedener Abänderungen der Nährlösung (Tabelle 25) nicht erfolgt. Da diese Versuche nur mit M IV durchgeführt wurden, können die Ergebnisse nicht verallgemeinert werden.

Die beste Wuchsstoffkombination für die Wurzeldifferenzierung von Apfelgewebe ist bei unseren Bedingungen 1 mg/lit NAA + 0,01 mg/lit BA. Kallus der mit diesem Verhältnis kultiviert wird, kann bei einer nächsten Umsetzung in einer neuen Nährlösung mit anderen Wuchsstoff-Verhältnissen bewurzeln, sogar wenn nur noch BA vorhanden ist.



Abb. 47: Entdifferenzierung der Wurzeln von M IX. Zwischen den Wurzeln sieht man chlorophyllhaltigen Kallus. (BA 0,2 mg/lt)

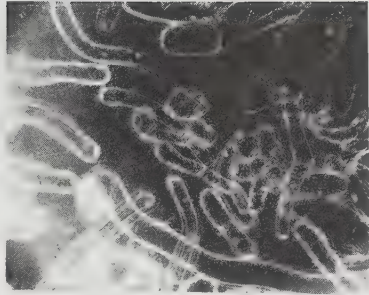


Abb. 48: Gestreckte Zellen aus dem basalen Wurzelkallus (Abb. 47).



Abb. 49: Entdifferenzierung der Wurzeln von M IV. (BA 0,2 mg/lt)



Abb. 50: Verzweigung bei Wurzeln von M IV. (NAA 1 mg/lt + BA 0,01 mg/lt)

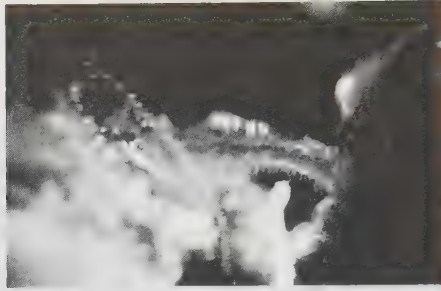


Abb. 51: Normale Wurzel bei M IV
(BA 0,05 mg/lt)



Abb. 52: Wurzeln aus Kallus von
M XI ohne Geotropismus (NAA 1 mg/lt
+ BA 0,01 mg/lt)

Tabelle 25.-

Abänderungen der M-S Nährlösung für die Kalluskultur vom Malus.

	Makronährstg.	Mikronährstg.	Fe-Chelat	P	N	Ga	Inosit	Piridoxin	Nikotinr.	Thiamin	Ca-Panthote- nat	Biotin	Riboflavin	Saccharose %	Gaseinhydro- lysat	Hefeextrakt	Adenin- sulfat	NAA	BA	Aktiv Kohle*	Glycin	Tyrosin	Arginin	Chlorogensr.	GA ₃
A	1	+	+				+	+	+	+	-	-	-	3	-	-	-	1	0.01	+	2	-	-	-	-
B	2	+	+				+	+	+	+	-	-	-	4	-	-	40	1	0.01	+	2	-	-	-	-
	3	+	+				+	+	+	+	-	-	-	4	-	-	40	1	0.01	+	2	-	-	-	-
	4	+	+				+	+	+	+	-	-	-	4	-	-	80	1	0.01	+	2	-	-	-	-
	5	+	+				+	+	+	+	-	-	-	3	-	-	160	-	-	+	2	100	-	-	-
C	6	+	+	x2			+	+	+	+	-	-	-	3	-	-	160	-	-	+	2	100	-	-	-
	7	+	+	x2			+	+	+	+	-	-	-	3	-	-	160	-	-	+	2	100	-	-	-
	8	+	+	x2			+	+	+	+	-	-	-	3	-	-	160	-	-	+	2	100	-	-	-
	9	+	+				+	+	+	+	-	-	-	3	1000	-	-	1	1	+	2	100	-	-	-
D	10	+	+	+			+	+	+	+	-	-	-	3	1000	-	-	-	1	+	2	-	-	-	-
	11	+	+	+			+	+	+	+	-	-	-	3	1000	-	-	-	1	+	2	-	-	-	-
	12	+	+	+			+	+	+	+	-	-	-	3	1000	-	-	-	1	0.01	2	-	-	-	-
	13	+	+	+			+	+	+	+	-	-	-	3	1000	-	-	-	1	0.01	2	-	-	-	-
E	14	+	+	+			+	+	+	+	-	-	-	3	1000	1000	-	-	-	+	2	-	-	-	-
	15	+	+	+			+	+	+	+	-	-	-	3	1000	1000	-	-	-	+	2	-	-	-	-
	16	+	x2	+			+	x2	+	x2	.5	.2	.2	3	-	-	40	-	-	+	2	-	-	-	-
	17	+	+	+			+	+	+	+	-	-	-	.5	-	-	-	1	0.05	+	2	-	5	70	-
F	18	+	+	+			+	+	+	+	-	-	-	1	-	-	-	1	0.05	+	2	-	5	70	-
	19	+	+	+			+	+	+	+	-	-	-	2	-	-	-	1	0.05	+	2	-	5	70	-
	20	+	+	+			+	+	+	+	-	-	-	4	-	-	-	1	0.05	+	2	-	5	70	-
	21	+	+	+			+	+	+	+	-	-	-	1	-	-	-	1	0.05	+	2	-	5	70	-
23-43	22	+	+	x2	x2		+	+	+	+	-	-	-	1	-	-	-	1	0.05	+	2	-	5	70	.01
	43	+	+	+			+	+	+	+	-	-	-	4	-	-	-	**	**	+	2	-	-	-	.01

* Aktiv-Kohle = 500 mg/lit

+ = anwesend

- = abwesend

Zahlen = mg/lit

** NAA = 0-.2-.4-.8 + BA= 0-.01-.05-.1-.15 in faktoriellen Kombination

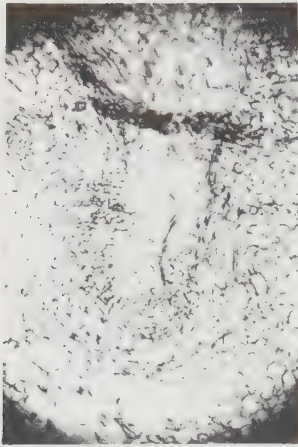


Abb. 53: Kambialähnliches Gewebe im Kallus vom Bittenfelder nach 6 Monaten Kultur (3. Umsetzung)

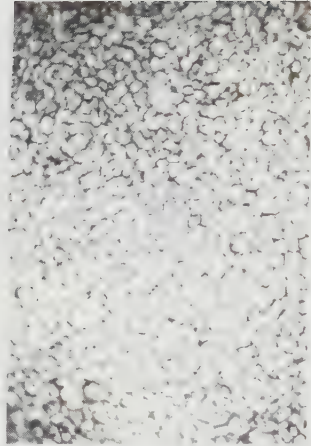


Abb. 54: Homogenes Kallus-Gewebe bei M II

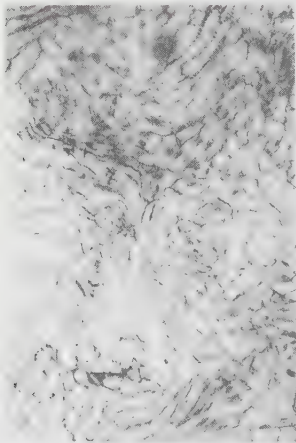


Abb. 55: Tracheidengruppen im Kallusgewebe vom Bittenfelder

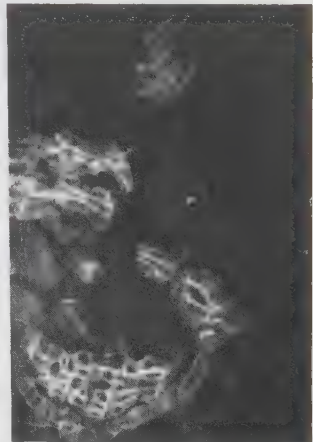


Abb. 56: Selber Schnitt als Abb. 55 unter Fluoreszenz-Mikroskop

3.1.10. Anatomische Untersuchungen von Kallusgewebe

Die Kallusse von den verschiedenen Malusunterlagen unterscheiden sich sehr in ihrem anatomischen Aufbau.

Die Kallusse von den schwachwachsenden M IX und M IV haben relativ isodiametrische Zellen und ihre Größe ist ziemlich konstant, was ein sehr homogenes Gewebe ergibt. An dem anderen Extrem liegt der starkwachsende Sämling, der viele Knötchen und kambialähnliches Gewebe in ungeordneten Richtungen bildet (Abb. 53). M II und M XI stehen in diesem Merkmal in der Mitte und beide zeigen Zonen mit homogenem (Abb. 54) und heterogenem Gewebe, wobei der Erste größere Zonen mit heterogenem Gewebe hat.

Alle Unterlagen bilden noch nach 18 Monaten in Kultur Tracheiden. Der Sämling Bittenfelder hat viel mehr Tracheiden als alle die anderen, und sie sind oft in Gruppen zusammen (Abb. 55-56). M IV, M IX und M XI bilden vielmehr einzelne Tracheiden.

M IX und M IV wachsen hauptsächlich oberflächlich. Die Zellen teilen sich in einer äußeren Schicht von etwa 160 μ , deren Zellen reicher an Cytoplasma sind als die nicht teilenden und inneren Zellen. Die Tracheidenbildung kann schon unmittelbar unter dieser Schicht geschehen (Abb. 57).

Die Zellen mit dem dichteren Protoplasma wurden bei M IX beobachtet (Abb. 58). Bei M IV lassen sich viele Vakuolen in der Teilungszone erkennen (Abb. 59).

Bei Bittenfelder und M II dagegen, wurden kaum teilende Zellen in der Peripherie beobachtet, sondern die Teilung erfolgt stärker, oder wenigstens in einem bestimmten Ausmaße in den inneren Zonen des Kallus, vor allem dort wo das Protoplasma nur eine sehr dünne Schicht zwischen Zellwand und Vakuole bildet. Teilende Zellen wurden nicht nur in dem kambialähnlichen Gewebe gefunden, sondern auch in vollvakuolisierten rein parenchymatischen Zellen (Abb. 60).

Bei Bittenfelder wurde außerdem eine dichte Anhäufung von Kernen beobachtet (Abb. 61).

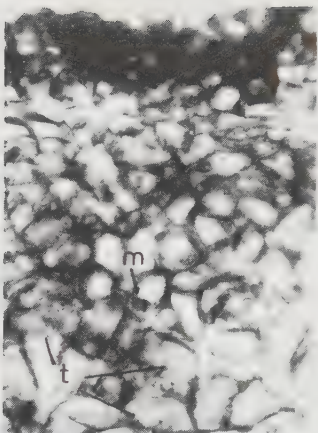


Abb. 57: Peripher liegende Tracheiden bei Kallusgewebe von M IX (m=Mitose; t=Tracheiden)

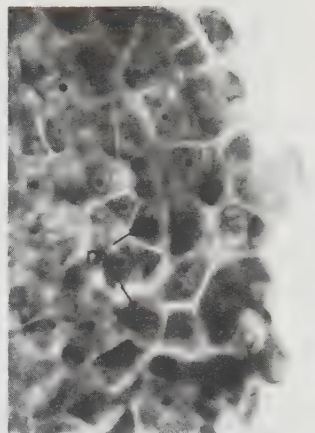


Abb. 58: Dichtprotoplastische Zellen an der Peripherie bei Kallus von M IX

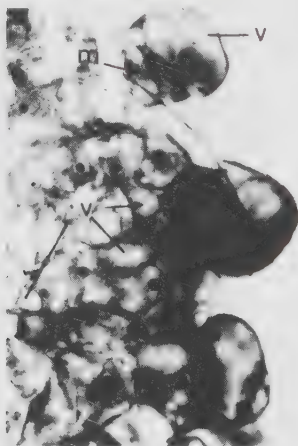


Abb. 59: Aktiv teilende Zone bei Kallus von M IV (v = Vakuolen)

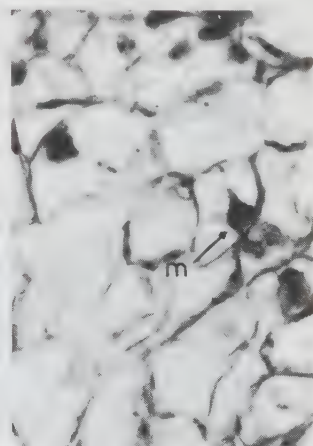


Abb.60: Teilende vakuolierte Zelle im Inneren bei Kallus von M II.

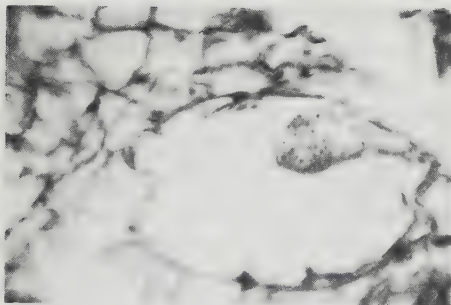


Abb. 61: Anhäufung von Kernen bei Kallus vom Bittenfelder nach 6 Monaten in Kultur (3. Umsetzung)



Abb. 62: Mycelähnliches Gewebe an der Oberfläche bei Kallus vom Bittenfelder

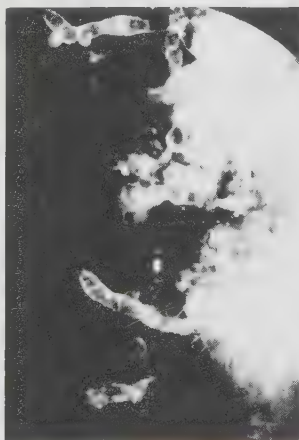


Abb. 63: Vergrößerung von Abbildung 62

Wenn Kallusgewebe von allen Klonen unter Dauerlicht kultiviert wurde, erscheint erst Anthocyanin und dann Chlorophyll. Während das Anthocyanin sich mit verschiedener Intensität in unterschiedlichen Zonen im selben Gewebe, oft in einer Zelle bildet, überdeckt das Chlorophyll das Gewebe relativ homogen. Es wurde eine positive Wirkung von BA, Adeninsulphat und Stickstoff (anorganisch oder als Caseinhydrolysat) auf die Chlorophyllbildung beobachtet.

Gelegentlich entsteht nach einer Verzögerung des Wachstums ein weißes mycelähnliches Gewebe an der Oberfläche des Kallus. Dieses Gewebe entstammt aus eindimensionalen Teilungsrichtungen von einzelnen Peripheriezellen, also aus Fäden, die sich auch verzweigen können, und nicht miteinander in Verbindung sind. Sie sind unfähig Chlorophyll zu bilden (Abb. 62-63).

3.1.11. Stärkegehalt von Kallusgewebe verschiedener Unterlagen

Nach Färbung mit Lugolscher Lösung zeigen M IX und M IV viel mehr Stärke als M II und M XI. M II hat die Stärke gleichmäßig verteilt. Dagegen zeigt M XI mehr einzelne Zone mit stärkereichen Zellen. Bittenfelder zeigt kaum Stärkeanlagerung.

In der Absicht, einen Frühdiagnose-Wachstumstest mit diesem Merkmal zu haben, wurde eine chemische Bestimmung durchgeführt (JENSEN, 1962). Die Stärke wurde, nach Extraktion der löslichen Substanzen mit Äthanol 75 %, mit Perchlorsäure hydrolysiert und dann der freie Zucker mit Anthron bestimmt. PANCZEL u. EIFERT (1960) vergleichen die üblichen Untersuchungsmethoden für die Bestimmung des Stärkegehaltes und zeigen, daß die Hydrolyse der Stärke durch Perchlorsäure statt mit Salzsäure und Diastase oder statt einer Extraktion mit warmen Wasser am geeignetsten ist.

Die Ergebnisse der Stärkebestimmung im eigenen Versuch sind in der Tabelle 26 dargestellt.

Tabelle 26

Stärkegehalt von Kallusgewebe von Malusunterlagen nach 21
Tagen in Kultur (2 mg/lt NAA + 0,2 mg/lt BA) in % des
Trockengewichts.

Bittenfelder	M XI	M II	M IV	M IX
0,25	0,40	0,47	0,61	0,84
	n.s.		n.s.	

n.s. = nicht signifikant

Das Ergebnis zeigt eine negative Beziehung zwischen Stärkegehalt als % des Frischgewichts vom Kallus und der Starkwüchsigkeit der Mutterpflanzen.

Die Mittelwerte von allen Unterlagen außer M II haben gesicherte Unterschiede ($P < 5\%$). M II hat keinen gesicherten Unterschied mit M XI und mit M IV.

3.2. Internodienkultur

3.2.1. Streckungswachstum

Das Wachstum der Internodien war sehr heterogen. Das scheint nicht nur durch die Mutterpflanze bedingt zu sein, sondern auch durch die Entnahmezeit der Proben.

Die Tabelle 27 zeigt das Streckungswachstum und die Kallusbildung nach 16-tägiger Kultur. Das Material wurde am 2. Juni mit 10 Wiederholungen pro Behandlung entnommen. Wegen Ausfalls durch Pilze und Bakterien sind die Werte aus 4 bis 10 Wiederholungen ermittelt worden.

Tabelle 27

Streckungswachstum in mm von isolierten Internodien (2 mm lang) in flüssiger Nährlösung. Zwischen Klammern Kallusbildung in %.

GA	NAA	M XI	M II	M IV	M IX
0	0	2,8 (-)	6,3 (-)	2,3 (75 ss)	3,7 (17)
1	0	2,8 (-)	5,2 (13 ss)	5,0 (-)	4,8 (14)
10	0	3,9 (-)	<u>7,8</u> (57 ss)	5,1 (-)	<u>5,1</u> (80)
0	0,1	4,1 (-)	4,9 (-)	4,8 (-)	3,6 (-)
1	0,1	3,4 (-)	5,5 (-)	<u>5,7</u> (-)	4,3 (17)
10	0,1	<u>5,9</u> (-)	7,7 (-)	5,0 (-)	2,8 (-)
0	1,0	4,8 (-)	4,8 (80 s)	4,5 (75)	3,5 (80)
1	1,0	5,0 (-)	4,9 (100ss)	4,7 (43)	3,0
10	1,0	4,1 (-)	3,9 (50)	2,7 (-)	3,5 (33)
0	10,0	4,0 (100)	2,4 (50)	2,8 (88)	3,0 (100)
1	10,0	3,6 (80s)	3,3 (100)	2,8 (100)	2,5 (100)
10	10,0	4,1 (28)	4,9 (100)	4,0 (67)	2,3 (100)

s = schwacher Kallus

ss = sehr schwacher Kallus

Aus der Tabelle 27 ersieht man folgendes:

1) Es gibt keine signifikanten Beziehungen zwischen der Wüchsigkeit der Unterlagen und dem Wachstum ihrer Internodien. Bei der Kontrolle zeigt M II ein viel stärkeres Wachstum und es gibt keinen gesicherten Unterschied zwischen den Extremen, also zwischen M XI und M IX.

M II zeigt außerdem mit Signifikanz das höchste Streckungswachstum überhaupt (in einigen Wiederholungen bis 5 mal mehr als die Originallänge).

2) Es wird erkennbar, daß die Internodien verschiedener Klone physiologisch nicht einheitlich auf die Wachstoffsugabe reagieren.

M XI zeigt eine stärkere Antwort auf Auxin und dies wirkt in höheren Konzentrationen nicht so depressiv wie bei den anderen Klonen.

Abb. 64 gibt einen allgemeinen Einblick in das Wachstum bei M II.

3) Bei den Wechselwirkungen haben die Klone verschiedene Optima (eingerahmte Werte in der Tabelle 27). Für diesen Optimalwert brauchen alle Gibberellin, aber das Auxin scheint nicht so notwendig zu sein.

Die Abb. 65 zeigt eine Wiederholung des Versuchs mit dem Effekt von GA. Hier wurden Bäume, die in Töpfchen gepflanzt waren, benutzt. Es sollten auf dieser Weise die Umwelteinflüsse ausgeschaltet werden. Die Pflanzen waren auf 3 Äste standardisiert.

Bei diesem Versuch hatte der mittelwachsende M VII eine deutliche Antwort auf GA gezeigt, aber M XI hat sich ähnlich verhalten wie im ersten Versuch. Wegen hoher Verluste konnte kein Effekt bei M IX auf GA gemessen werden.

In einem dritten Versuch mit allen 5 Klonen und Behandlungen von 1 und 10 mg/lit GA wurde kaum ein Streckungswachstum beobachtet, ausgenommen beim Sämling Bittenfelder (bis 4 mm). Allerdings war die Probeentnahme Ende Juli, also in der Zeit wo die Apfelbäume eine kurze Periode sommerlicher Wachstumsruhe haben.

3.2.2. Kallusbildung aus den Internodien

Kallusbildung wurde bei einigen Explantaten beobachtet. Sie wurden meistens an der Basis gebildet (Abb. 65), jedoch auch wie bei M IX sind die Internodien angeschwollen und als unorganisiertes Gewebe entwickelt.

Beim Versuch vom Juni (Tabelle 27) wurde ein deutlicher Effekt der IES beobachtet. M IX zeigte Kallusbildung bei fast allen Behandlungen und M XI nur bei 10 mg/lt. M II und M IV haben eine mittlere Tendenz zur Kallusbildung.

Im allgemeinen darf man sagen, daß die Internodienexplantate eine Neigung zur Kallusbildung zeigen, die umgekehrt mit der entsprechenden Wüchsigkeit in Beziehung steht.

Das wurde auch beim Versuch von Ende Juli beobachtet, wobei folgende Reihe nach der Neigung zur Kallusbildung geordnet werden kann: M IX > M II $\geq$ M IV > M XI > Bitt. Ein positiver Effekt von GA auf die Kallusbildung wurde hier ebenfalls beobachtet. Dagegen war im Versuch vom Juni der Einfluß der GA unterschiedlich (Tabelle 27).

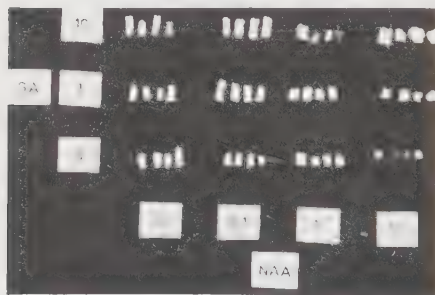


Abb. 64: Einfluß von GA und NAA auf die Internodienstreckung von M II (Juni).

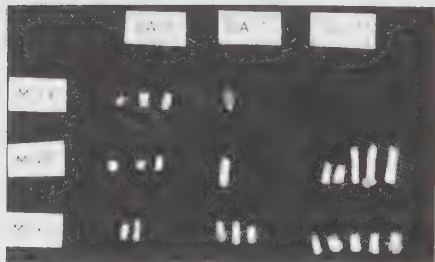


Abb. 65: Einfluß von GA auf die Internodienstreckung verschiedener Unterlagen.

Eine mikroskopische Untersuchung des Kallus zeigt, daß es sich nicht um kompakte isodiametrische Zellen handelt, sondern hauptsächlich um Zellstreckung des Rindenparenchyms, was ein sehr lockeres und weiches Gewebe gibt.

3.2.3. Effekt des Hormons auf die Streckung der Internodien

Die äußerlich sichtbare Streckung kann sowohl durch Zellstreckung als auch durch Zellvermehrung verursacht werden. Um diesen Punkt aufzuklären, wurden Längsschnitte gemacht, die Zellen gezählt und beide Möglichkeiten in % (Tabelle 28) ausgedrückt.

Tabelle 28

Relativer Anteil der Zellstreckung und Zellvermehrung () in % des gesamten Internodienwachstums

GA - NAA (mg/lt)	M XI	M IV	M IX
10 - 0	74 (26)	74 (26)	77 (23)
0 - 1	74 (26)	82 (18) n.s.	----

n.s. = nicht signifikant

Die Daten zeigen, daß die drei Unterlagen unter dem Einfluß von Gibberellinsäure dieselben Verhältnisse für beide Wachstumsprozesse haben.

Obwohl eine Tendenz zu einer größeren Bedeutung der Zellstreckung bei M IV unter dem Einfluß von Auxin zu sein scheint, ist sie nicht signifikant.

Bei allen Behandlungen wurde die Verlängerung der Internodien hauptsächlich durch Zellstreckung verursacht.

Das distale und proximale Ende der Internodien, jeweils etwa 1,1 mm lang, hatte kleinere Zellen als die Mitte. Dies spricht dafür, daß eine Zellteilung nahe der Knotenregion erfolgte.

In der Streckungszone können die Zellen des Markes bis 63 μ m messen. Diese Länge ist größer als die Markzellen eines reiferen Internodiums, das in vivo gewachsen ist (39 μ),

woraus man schließen kann, daß dort die Zellstreckung eine kleinere Rolle spielt und daß das begrenzte Internodiumwachstum (bis 7-10 mm maximal) in Vitro hauptsächlich auf einen Mangel an Zellteilung und nicht an Zellstreckung zurückzuführen ist.

4. Diskussion

Die Zugabe von Auxinen und Cytokinin zu einem Basis-Nährmedium (Mineralien, Vitamine, Zucker) ist notwendig, wenn man ein Gewebe eine längere Zeit in Vitro kultivieren will. Eine Ausnahme davon sind die "habituated tissues" (STREET, 1969). Bei den eigenen Versuchen ist in der ersten Kultur nur eines dieser Phytohormone für das Auslösen der Zellteilung und -streckung notwendig gewesen. Die Ursache dafür könnte ein schon im Explantat vorhandener endogener Gehalt an Auxin und Cytokinin sein, der jedoch nicht hoch genug war, um selbst das Wachstum zu induzieren. Dann hätte eine Zugabe von einem der beiden Hormone synergistisch gewirkt. Eine zweite Möglichkeit könnte sein, daß die endogene Verbindung in genügender Menge, aber in gebundener Form vorliegt. In diesem Fall könnte die Zugabe einer freien Form die andere aktivieren. Eine solche Möglichkeit wurde für Auxin als Erklärung des Beginns der Kambialaktivität im Frühling schon formuliert (WILCOX, 1962). Nicht bekannt ist jedoch ein gegenseitiger Einfluß von einem Phytohormon auf ein anderes. Das Vorkommen von einer gebundenen Form ist für Auxin bekannt (THIMANN, 1969), aber nicht für Cytokinin. Eine Zugabe von Auxin könnte einen Reifeprozess von Xylemelementen auslösen, was nach der Vorstellung von SHELDRAKE und NORTHCOTE (1968 a,b,c), sekundär durch autolytische Prozesse eine Cytokininbildung auslösen könnte.

Die Ergebnisse zeigen jedoch, daß obwohl Unterschiede in der Reaktion auf Hormone zwischen der Klonen vorhanden waren, sie in keiner Beziehung mit der Wuchsstärke der Unterlagen stehen.

Auch bei den Wuchsstoffkombinationen wurde eine solche Beziehung nicht gefunden. Es gibt kein "universales", optimales Wuchsstoffverhältnis, was für alle Klone Gültigkeit hätte. Es bleibt offen, ob die intakten Veredlungspartner vom Hormonmilieu ähnlich unabhängig sind.

MESSER und LAVEE (1969) berichten, daß schnellwachsende Kallusse von M XIII größere und wasserreichere Zellen ha-

ben als von M IX. Das wurde hier durch eine gesicherte negative Korrelation zwischen dem Frischgewicht und dem prozentualen Trockengewicht für jede Typ-Unterlage bestätigt. Die Frisch- und Trockengewichte sind als Wachstumsparameter anzusehen, jedoch entspricht die Gewebekultur dem Wachstum der intakten Pflanzen nicht ganz. Die Zellstreckung ist viel größer im Kallus als im normalen Gewebe der untersuchten Pflanzen.

Obwohl M XI starkwachsend ist, scheint er in der Kalluskultur schwächer als die anderen zu sein. Dies ist jedoch nicht auf die geringe Zellzahl zurückzuführen, sondern auf die stärkere Zellstreckung bei den anderen Typ-Unterlagen.

M IX zeigt eine eng begrenzte optimale Wuchsstoffkombination. MESSER und LAVEE (1969) schließen, daß die Hemmung dieser Typ-Unterlage bei einer höheren Konzentration an Kinetin auf ein höheres Niveau an endogenem Wuchsstoff zurückzuführen ist. Jedoch, diese Hemmung würde sich nur auf die Zunahme an Gewicht beziehen, was auch in den eigenen Ergebnissen deutlich wird. Trotzdem nimmt bei einem höheren Niveau an Cytokinin die Zellzahl zu, wenn auch das Gewicht abnimmt. Man kann also weder von Hemmung, noch von höherem endogenem Gehalt aus dieser Beobachtung schließen.

Die Wachstumsstreuung zwischen den biologischen und experimentellen Wiederholungen ist zum größten Teil durch die Auxin- und weniger durch die BA-Behandlungen bedingt. Es ist anzunehmen, daß die Auxinwirkung stärker von dem physiologischen Zustand der Explantate abhängt als von der Cytokininwirkung.

Aus dem Prozentsatz an Trockengewicht, aus der Zellzahl/Gewicht und aus anatomischen Beobachtungen kann man erkennen, daß bei niedriger NAA Konzentration das BA die Zellstreckung fördern kann. Das ist auch für Kallusgewebe von Apfel (SAAD und BOONE, 1964; MESSER und LAVEE, 1969) und für andere Objekte (FOX, 1969) berichtet worden.

Es wurde gefunden, daß das m-Inosit und einige Vitamine einen positiven Einfluß auf das Wachstum bei M IV, nicht

aber so stark bei M XI haben. Ob diese Unterschiede durch verschiedenen endogenen Gehalt des Explantats bei Beginn des Versuches oder durch andere Faktoren bedingt sind, läßt sich aus dieser Beobachtung nicht schließen. Immerhin zeigt sich, daß auch andere Faktoren außer Wuchsstoffen verschiedene Reaktionen bei den Typ-Unterlagen auslösen können. Deshalb darf man auch nicht generell von einer optimalen Nährlösung für Malus sprechen.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die Kalluskultur das Wachstum der zugehörigen Typ-Unterlagen nicht entsprechend reproduzieren konnte. Dazu wäre zu sagen, daß auch die intakten Typ-Unterlagen in bestimmten Wachstumsphasen dieselbe Zuwachsgeschwindigkeit haben.

Eine Erklärung dafür ist bei dem aktuellen Stand unserer Kenntnisse schwierig. Die Regulierung des Wachstums bei intakten Pflanzen ist das Ergebnis von zahlreichen endogenen Wechselwirkungen zwischen ihren Teilen und der Umwelt, was in der Gewebekultur nicht der Fall ist.

Eine weitere Schwierigkeit für die Lösung der Fragestellung durch Gewebekultur besteht in der jahreszeitlichen Wachstumsschwankung der Explantate. Eine solche Periodizität wurde von SUSSEX und CLUTTER (1959) ausführlich beschrieben. Sie haben ohne Ausnahme, (11 Baumarten) wie hier bei Apfel, gefunden, daß das beste Wachstum der Explantate gegen den Knospenaustrieb geschieht, und dann nimmt es im Laufe des Sommers ab.

Unterschiede in der Periodizität können auch in verschiedenen Teilen einer Pflanze vorkommen (TRIPPI, 1963).

Die Ursache dieses Phänomens ist unbekannt. Die Explantate bräunen im Sommer schnell und oft erfolgt eine Diffusion von gelb gefärbten Stoffen in die Nährlösung. Diese Stoffe sind wahrscheinlich oxydierte phenolische Verbindungen. Es ist dann zu vermuten, daß im Sommer, gerade wenn ein schnelles Dickenwachstum geschieht, ein schneller Reifeprozeß des Xylems parallel läuft, was eine Anreicherung an löslichen Phenolen (Vorstufen des Lignins) voraussetzt

und eine höhere spezifische Enzymaktivität und zwar von Phenoloxidasen und Peroxidasen für die Polymerisierung der Phenole zu Lignin, erfordert. Dann wäre an der Wundstelle durch Zerstörung der zellulären Organisation eine Beeinflussung von aktiven Stoffen z.B. Enzyme durch Phenole oder ihre Oxydationsprodukte wie Quinone möglich.

Die beobachtete günstige Wirkung einer sofort nach der Entnahme des Explantates durchgeführten PVP-Behandlung spricht für ein solches System (LOOMIS u. BATT, 1966).

Das Frischgewicht von M XI ist auch durch Änderung in der Mineralstoffzusammensetzung beeinflusst worden. Ein höheres $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ -Verhältnis, mehr Phosphor und eine Reduzierung von Ca^{+2} und K^+ wirkten positiv. Dagegen hatte eine Zugabe von Mg^{++} einen negativen Effekt.

Neben allen diesen beschriebenen Wirkungen darf außerdem nicht vergessen werden, daß wie die Untersuchungen zeigten, auch Mineralstoffe in verschiedenen Konzentrationen einen Einfluß auf das Kalluswachstum haben.

Die Wuchsstoffe, Vitamine und Mineralien beeinflussen nicht nur das Wachstum, sondern auch die Organogenese. Die Unterlagen scheinen verschiedene innere Voraussetzungen für die Organogenese zu haben, wobei M IV am besten in der ersten Kultur war.

Obwohl Kambiumgewebe von Apfel und anderen Obstarten in Vitro mit verschiedenen Nährlösungen und physikalischen Bedingungen kultiviert worden sind (SAAD und BOONE, 1964; MESSER und LAVEE, 1969; ABBOT und BEST, 1970), wurde bis jetzt kein günstiges Medium gefunden, das eine Organogenese bei diesen Gehölzen ermöglicht.

Nach dem eigenen Versuch haben die folgenden Faktoren einen Einfluß auf die Wurzelbildung: a) Auxin/Cytokinin-Verhältnis, b) chemische Struktur der Wuchsstoffe, c) physikalische Bedingungen.

Bei den hier gegebenen Bedingungen war nur die Bildung von Adventivwurzeln möglich, und zwar am besten bei 1 mg/lt NAA + 0,01 mg/lt BA und bei 10 mg/lt NAA + 0,1 mg/lt BA.

Obwohl bei diesen Phytohormonverhältnissen derselbe Anteil bewurzelter Explantate gebildet wird, ist das Wurzelwachstum besser bei der ersten Kombination gewesen. Auch HEIDE (1965) berichtet, daß nicht nur das Auxin/Cytokinin-Verhältnis wichtig ist, sondern auch die absolute Menge.

WOLTER (1968) findet, daß Cytokinine auch noch bei niedrigen Konzentrationen die Wurzelbildung bei Espenkallus hemmen. Das wurde bei der Kalluskultur von mehreren Prunusarten in eigenen unveröffentlichten Versuchen bestätigt.

Der BA-Effekt in der Wurzelbildung ließ sich durch Kinetin in den bisherigen Versuchen nicht ersetzen. MESSER und LAVEE (1969) arbeiten mit ähnlichen Wachstoffsstoffkonzentrationen von NAA und Kinetin ohne von einer Wurzelbildung zu berichten. Eine unterschiedliche Wirkung von verschiedenen Cytokinin auf die Morphogenese ist auch bei anderen Objekten beschrieben (BHOJWANI und JOHRI, 1970). Andererseits wirkt nach SUNDERLAND (1968) NAA günstiger als 2,4-D auf die Wurzelbildung. Auch auf die Bewurzelung von Stecklingen wirken verschiedene Auxine bekanntlich unterschiedlich (HARTMANN und KESTER, 1968).

Wenn die optimale Lösung zur Wurzelbildung zusammen mit Agar vorbereitet wurde, haben die Kallusse einen anderen äußeren Aspekt, größere Zellen, und keine Wurzeln. Die beste Bewurzelung erfolgte in einem flüssigen Nährmedium in statischer Kultur. Auch in Rotationskultur wurden gelegentlich Wurzeln beobachtet, jedoch ist die statische Kultur wahrscheinlich wegen eines besseren Gasaustausches besser. ROMBERGER und TABOR (1971) finden eine negative Korrelation zwischen dem Trockengewicht des Kallus und der Agarkonzentration. Sie erklären dies durch Änderungen der Enzymdiffusion. Es ist möglich, daß die Diffusion nicht nur für Enzyme besteht, sondern auch für andere Stoffe. Auf diese Weise kann ein Mikromilieu z.B. durch die Abscheidungsprodukte, die auf dem Papier adsorbiert werden (Phloroglucin-positiv), entstehen. Dieselbe Phloroglucin-Reaktion wird bei Kalluskultur auf Agar beobachtet (VENVERLOO, 1969). Es wäre mög-

lich, daß sich auf Agar ein dichteres "Netz" von diffundierten Stoffen bildet, das den Austausch von Ionen und organischen Stoffe noch stärker behindert oder daß die sekundären Stoffprodukte direkt das Wachstum stören.

Auch die Vitamine, Thiamin und Nikotinsäure scheinen nicht notwendig für die Wurzelbildung zu sein, und Inosit und Pyridoxin könnten erniedrigt werden. WOLTER u. SKOOG (1966) finden bei anderen Gehölzen eine Wachstums- hemmung durch Pyridoxin bei Konzentrationen über 0,2 mg/lit, und ein Wachstumsoptimum bei 0,05 - 0,1 mg/lit. Hier wirkte eine Verminderung von 0,5 zu 0,1 mg/lit, in Abwesenheit von Thiamin und Nikotinsäure, negativ auf das Wachstum, jedoch positiv auf die Wurzelbildung.

Eine Erhöhung der Mg Konzentration (2x u. 3x) über diejenige von dem Basalnährmedium (370 mg/lit Mg SO₄ · 7 H₂O) wirkt hemmend auf die Wurzelbildung.

Das Fehlen an Geotropismus der Wurzeln ist wahrscheinlich durch ihren Adventivcharakter verursacht, da sie monopolar sind. VASIL u. HILDEBRANDT (1966 a) beobachteten dasselbe Phänomen bei Adventivwurzeln, wenn kein Sproß gebildet wurde. Trotzdem zeigten bei anderen Pflanzen, die zuerst Sproße gebildet haben (1966 b), die Adventivwurzeln, obwohl sie nicht in direkter Verbindung mit den Sprossen waren, einen positiven Geotropismus, was das Dasein von stofflichen Gradienten zwischen Sproß oder dem Steuerzentrum und Wurzeln, voraussetzt.

Aus dem unterschiedlichen anatomischen Aufbau der Kallusse, wie auch aus der Wurzelbildungsfähigkeit, läßt sich keine absolute Korrelation mit der Wuchstärke ziehen.

Immerhin, beide Typ-Unterlagen, die keine Wurzeln gebildet haben, zeigen Knötchen mit lignifizierten Tracheiden und zentralem kambialähnlichem Gewebe, was ein Zeichen von Teilungsaktivität ist.

Das zeigt, daß der funktionelle Charakter der Kambialzellen, also die Xylembildung, stark fixiert ist. Daß spezielle Charaktere der Zellen fixiert sein können, beweist

die Arbeit von STOUTEMYER u. BRITT (1965), wonach das unterschiedliche Verhalten von Kallus aus Explantaten von der Alters- und Jugendzone einer Pflanze sich jahrelang fortsetzen kann.

Obwohl hier bei verschiedenen Konzentrationen an Wuchsstoffen mehr Tracheiden bei Kallus von Bittenfelder (starkwachsend), die mehr als 1 Jahr kultiviert waren, beobachtet wurden, finden MESSER und LAVEE (1969) solche Tracheiden bei M IX, aber anscheinend nicht beim starkwüchsigen M XIII.

Es läßt sich eine negative Korrelation zwischen dem Stärkegehalt vom Kallusgewebe und der Wüchsigkeit der Mutterpflanzen ermitteln. MESSER u. LAVEE (1969) berichten auf Grund histochemischer Stärkereaktion auch über eine solche Beziehung.

Es läßt sich außerdem eine Beziehung zwischen der Stärke und der Fähigkeit der Kallusse, Wurzeln zu bilden, erkennen. THORPE u. MURASHIGE (1968) fanden eine starke positive Korrelation zwischen Stärkeeinlagerung und Sproßbildung von Kallus. Auch bei der Blütenbildung wurde über eine Beteiligung der Stärke (Kohlenhydrat/Stickstoff-Theorie) berichtet (KOBEL, 1954). Die Stärkeeinlagerung und ihre Beziehung zur Organogenese ist demnach nicht spezifisch für einen bestimmten morphogenetischen Prozess.

Besonders interessant ist, daß der Stärkegehalt mit dem Wachstum der intakten Pflanze und nicht mit dem Frisch- oder Trockengewicht des Kallus korreliert ist, was einen relativ sicheren Parameter im Zusammenhang mit einem spezifischen Stoffwechsel der Typ-Unterlagen gibt.

Weder GA_3 und NAA allein, noch in Kombinationen konnten bei der Internodienkultur eine Wachstumsreaktion auslösen, die der Wüchsigkeit der Pflanzen entspricht.

Obwohl PIENAZEK (1969) keine positive Wirkung von NAA oder GA_3 (auch mit M + S-Nährlösung) auf das Streckungswachstum von Apfeltriebspitzen findet, sondern nur von BA, wurde hier eine sehr starke Streckung einzelner Internodien durch beide Wuchsstoffe (NAA u. GA_3) ermittelt und zwar war

die Zellstreckung doppelt so hoch als bei normalen gestreckten Zellen.

Die Streckung erfolgt nur in der axialen Richtung. JONES (1967) berichtet auch über einen günstigen Einfluß von BA auf das Streckungswachstum von Apfelsproßspitzen. Es wäre dann interessant zu wissen, wie die drei Phytohormone zusammen wirken und auch wie dadurch die Zellteilung und -streckung von unreifen Internodien beeinflußt wird. Es ist möglich, daß noch andere Faktoren außer Wuchsstoffen an diesem Prozess beteiligt sein könnten. DUTCHER (1968) berichtet, daß eine höhere Konzentration an Zucker (6%), Vitaminen, und Mikronährstoffen günstig auf die Streckung von Knospen wirken. Merkwürdigerweise zeigten IAA und GA₃ keine oder sogar eine hemmende Wirkung.

VI. GESAMTDISKUSSION

Die Zielsetzung dieser Untersuchungen war, relativ schnell durchführbare Verfahren einer Frühselektion auf Wuchsunterschiede bei Malusunterlagen zu erforschen.

Aus diesem Grunde wurden Informationen aus einem ziemlich breiten botanischen Bereich, d.h., der Anatomie, Histochemie, Physiologie und Gewebe- und Organkultur gesammelt.

In erster Linie boten sich, dem Zweck entsprechend, die anatomischen Untersuchungen an. Dies nicht allein wegen der einfachen Versuchstechniken, sondern weil man nach den Befunden von BEAKBANE (1941, 1956) sowie BEAKBANE und THOMPSON (1945), die an Wurzeln gewonnen wurden, hoffen konnte, auch für die Sprosse bestimmte anatomische Merkmale als Indizien der Wüchsigkeit zu finden.

Diese Arbeitshypothese konnte nicht befriedigend bestätigt werden, obgleich einzelne Hinweise sporadische zum Vorschein kamen, z.B. die spezialisierten Markzellen und die Oxalatkristalle bei den schwächerwüchsigen Typ-Unterlagen. Sie erschienen jedoch nicht eindeutig genug, um das ganze Gewicht der Untersuchungen nur auf sie zu konzentrieren.

Die umfangreichen anatomischen und histochemischen Untersuchungen geben zu der Folgerung Anlaß, daß die Sproßorganisation, d.h., die Differenzierung von Mark, Xylem, Phloem, Rinde usw. strengen korrelativ gesteuerten Gesetzmäßigkeiten unterworfen ist und daß die genetisch bedingte Wuchsstärke nicht mit schnell erkennbaren anatomischen Variationen in Beziehung steht.

Konsequenterweise wurde im Verlaufe der Untersuchungen den physiologischen Aspekten mehr Gewicht eingeräumt. Es ergaben sich Hinweise, daß die jungen Spitzen wachsender Triebe um so mehr löslichen N haben je stärkerwüchsig die Unterlage ist. Indessen, der unlösliche N-Anteil, wozu die Proteine gehören, zeigt keine Relation zur Wüchsigkeit. So wird jegliche Interpretation fraglich.

Auch liegen aus der Literatur widersprechende Aussagen vor. Der Blutungssaft von M IX soll mehr N enthalten als der von M XI (MEYER, 1964). Andererseits wächst die Typ-Unterlage Crab C (starkwachsend) bei niedrigem N-Angebot sehr viel stärker als M IX, was einen starken Akropetaltransport von N bei Crab C voraussetzt. Bei jeweils hohem N-Angebot wird die Wachstumsdifferenz zwischen beiden geringer. Demnach könnte die Nährstoffabsorption und der plasmatische Quertransport von der Nährlösung bis zu den Wurzeltracheen beim starkwüchsigen Typ stärker sein.

Dies würde, wie vorausgehend erwähnt, die lösliche N-Fraktion in der Triebspitze erhöhen.

Daß die verschiedenwüchsigen Typ-Unterlagen unterschiedliche Transportkapazitäten haben, konnten BUKOVAC et al (1958) mit markiertem Ca und P nachweisen. In den eigenen Versuchen hatte M IX einen geringeren Gehalt an löslichem Ca als der starkwüchsige M XI in den jungen Triebspitzen. Möglicherweise steht dies mit einem unterschiedlichen Membrantransport der beiden verschieden wachsenden Unterlagen in Verbindung.

Die schwachwüchsigen Typen erbrachten etwas mehr Glukose in der Rinde. Auch MARTIN und WILLIAMS (1967) finden bei solchen Typen mehr Sorbitol und Stärke, verglichen mit starkwüchsigen. WETMORE und RIER (1963) konnten in ihren oft zit. Kallusversuchen durch höhere Zuckerkonzentrationen die Phloemdifferenzierung fördern, während weniger Zucker die Xylembildung stimuliert.

Dieses Modell läßt sich gut auf die Verhältnisse in den Wurzeln übertragen, wo BEAKBANE (1941, 1956) bekanntlich mit zunehmender Schwachwüchsigkeit einen höheren Rindenanteil beschreibt.

Im Sproßteil konnte nur für M IX, verglichen mit den andern Typ-Unterlagen, ein höherer Rindenanteil nachgewiesen werden. Eine sehr kräftige Rinde hat außerdem auch der schwachwachsende Typ M 26.

Nach den N-Verbindungen und den Kohlenhydraten kommt den Phenolen eine mannigfache, wenn auch im Detail oft noch unklare Rolle bei Wachstums- und Differenzierungsvorgängen zu. Deshalb wurden sie ebenfalls mit in die Untersuchungen einbezogen.

Die schwachwachsenden Typen haben, nach der Größe und Intensität der chromatographisch getrennten Flecken zu schließen, eine höhere Gesamt-Menge an Phenolen als die starkwüchsigen Typ-Unterlagen. Das heißt jedoch keinesfalls, daß eine physiologische Beziehung zwischen beiden Merkmalen in Bezug auf die Wüchsigkeit bestehen muß. Lediglich als Schnell-Diagnosetest auf das Wuchspotential ist hier zunächst ein gewisses Interesse zu legen.

Es ist außerdem zu überlegen, daß die Gesamtmenge an Phenolen nicht unbedingt das Wachstum beeinflusst. Vielmehr können einzelne Phenole oder das Zusammenwirken mehrerer Phenole und zwar antagonistisch oder synergistisch u.U. merkliche Effekte auf das Wachstum ausüben. Es hat sich nämlich gezeigt, daß mindestens 2 phenolische Verbindungen aus der Sproßspitze eine hemmende Wirkung auf das Kalluswachstum von Apfelsproßgewebe haben. Die Konzentration entsprach hierbei 1,5 Triebspitzen, die ca. 4 cm lang waren. Sie konnten nicht identifiziert werden, und eine von ihnen tritt bei den schwachwüchsigen Typen verstärkt auf. Es wäre wohl sinnvoll, mit diesen Verbindungen weiter zu experimentieren.

Bei diesen physiologischen Untersuchungen hat sich gezeigt, daß die Heterogenität des Sproßmaterials, bedingt durch den Habitus der Baumgehölze, den experimentellen Erfordernissen eines Schnelltests diametral entgegen steht. Um die hohe Variabilität auszugleichen, müßten sehr zahlreiche Wiederholungen durchgeführt werden, was in diesem Falle gar nicht möglich ist.

Um diese Schwierigkeiten aus dem Weg zu räumen, wurde die Gewebekultur als eine weitere Methode in die Untersuchungen mit einbezogen.

Mehrere Nährlösungen wurden geprüft, um Kallus von den Unterlagen zu kultivieren. Die Murashige u. Skoog Nährlösung hat das beste Wachstum ergeben und erlaubt außerdem in Abhängigkeit vom Auxin/Cytokinin-Verhältnis und von der -Konzentration, gute Voraussetzungen für eine Differenzierung von adventiven Wurzeln. In der Literatur (SKOOG u. MILLER zit. von STREET, 1969) findet man, daß ein niedriges Auxin/Cytokinin-Verhältnis günstig auf die Sproßdifferenzierung wirkt. Das konnte bei Apfelkallus nicht bestätigt werden. Auch Substrat-Änderungen, die oft mit der Embryogenese oder Sproßbildung in Verbindung gebracht worden sind, wie Adeninsulfat, Cocosnußmilch, Caseinhydrolysat, Hefe-Extrakt, Erhöhung des P, haben negative Ergebnisse gegeben. Es wurde auch keine Beziehung zwischen Wurzelbildung im Kallus und der Wüchsigkeit gefunden. M II und der Bittenfelder haben keine Wurzeln gebildet. ASHIRU u. CARLSON (1968) finden bei Stecklingen von M II einen endogenen Hemmstoff gegen die Wurzelbildung.

Es ließ sich auch keine strenge Beziehung zwischen dem Gewicht des Kallus und der Wüchsigkeit der Mutterpflanze feststellen. Jedoch wurde eine Relation zwischen Stärkegehalt pro Frischgewicht des Kallus und der Wuchsstärke der Pflanze gefunden.

Diese Fähigkeit zur Stärkebildung kann noch mit der Fruchtbarkeit der Bäume in Verbindung stehen. Obstsorten auf schwachwüchsigen Typen blühen bekanntlich früher und sind auch blühwilliger. Schon lange ist bekannt (KOBEL, 1954), daß die Blütenbildung beim Obstbaum während der Induktionsphase durch eine Stärkeansammlung im Fruchtholz gekennzeichnet ist. Diese Befunde haben nie eine Erklärung gefunden, weil die Stärke inaktiv in den Zellen deponiert ist.

Besonders wichtig ist: der Prozentsatz der Stärke des Frischgewichts ist unabhängig von der Wachstumsrate der Kallusse.

Der Stärkegehalt hat in der Pflanze eine Jahrespe-

riodizität (SAUTER, 1967) und hängt von dem Wachstumszyklus ab. Es wird berichtet, daß die Kohlenhydratsumwandlung und damit die Stärke durch Temperaturvariationen beeinflusbar ist. Dabei sind die Temperaturbereiche, in denen die Umsteuerungen einsetzen, bei verschiedenen Arten unterschiedlich (JEREMIAS, 1964). Eine Messung der Stärke im Kallus hat daher hervorragende Vorteile wegen der sehr hohen Standardisierungsmöglichkeiten. Ein weiterer Vorteil ist die höhere Homogenität des Gewebes in dem Kallus als in der Pflanze.

MESSER u. LAVEE (1969) berichten unter ganz anderen Wachstumsbedingungen auch von einem solchem Unterschied in dem Stärkegehalt zwischen M IX und XIII, was ein Zeichen einer hohen Spezifität ist.

Deshalb ist es möglich, daß die Messung an Stärke vom Kallus aus verschiedenen Pflanzen ein Test zur Frühselektion zur Wüchsigkeit und/oder zur Frühreife dienen könnte. Es wäre noch zu bestimmen, wie sich der Stärkegehalt mit der Wachstumskurve, mit der Temperatur und dem pH des Mediums ändert, um den größten Unterschied zwischen den extremen Wuchstypen zu erhalten.

VII. ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden anatomische, physiologische und biochemische Parameter auf ihre Beziehung mit der Wüchsigkeit von *Malus* Unterlagen (Sämling Bittenfelder, M XI - II - IV - IX) untersucht, und zwar mit folgenden Befunden:

- a) In dekapitierte Sprossen fördert 3 u. 6% Phloridzin in Lanolinpaste das Wachstum vom Rindenparenchym, 3% Phloridzin und IES 100 ppm + GA 500 ppm haben eine negative Wirkung auf die Differenzierung des Xylems.
- b) IES 500 ppm + GA 100 ppm oder IES 100 ppm + GA 500 ppm stimulieren die Kambialaktivität in geschnittenen und entknospeten Trieben. IES allein hat eine schwächere Reaktion, und GA wirkt kaum.
- c) Es besteht keine Beziehung zwischen dem Verholzungsgrad an der Triebspitze und der Wüchsigkeit.
- d) Die Kambialaktivität von einer 3-jährigen Ringokulation wurde nicht durch die Unterlage beeinflusst.
- e) Wachsende Triebe von schwachen Bäumen haben 2 bis 30 cm von der Spitze entfernt mehr Stärke im Periderm. Auch in der Stärkescheide haben diese Bäume bei ca. 30 cm Abstand von der Spitze mehr Stärke. Dagegen wurde in den Xylemstrahlen, von 10- bis 30 cm und im Mark keine Tendenz beobachtet.
- f) Schwache Unterlagen haben im allgemeinen mehr Phosphorylaseaktivität im Mark.
- g) Das Mark unterscheidet sich zwischen stark- und schwachwachsenden Typen in seinem Differenzierungsgrad. Schwache Unterlagen haben mehr Stoffwechselaktivität in einem höheren Anteil spezialisierter Zellen. Außerdem haben sie mehr Ca-Oxalat Kristalle.
- h) Ruhende Triebe von M IX haben den höchsten Gehalt an Kasonlignin. Es besteht aber keine allgemeine Beziehung mit der Wuchsstärke.
- i) Schwächere Typ-Unterlagen haben weniger löslichen-N an der Triebspitze als stärkere. Es wurde zwischen den Typen weder in dem unlöslichen-N noch in dem löslichen/unlösli-

chen N-Verhältnis eine Beziehung gefunden. Auch in der qualitativen Aminosäure-Zusammensetzung, wurden keine wesentlichen Unterschiede festgestellt.

j) Es wurden Unterschiede in der Peroxidaseaktivität zwischen den Typen, aber nicht in Beziehung mit der Wüchsigkeit gefunden.

k) Schwachwachsende Unterlagen haben mehr Gesamt-Phenole und phenolische Säureester. Es wurden Phloridzin, Isoquercitrin, Hyperin p-Cumarsäure, Ferulasäure, Chlorogensäure und ein Ester der p-Cumarsäure identifiziert. Zwei noch unidentifizierte Phenole wirken stark hemmend auf das Kalluswachstum, Phloridzin dagegen nicht.

l) M IX hat eine nicht gesicherte höhere Menge von Gesamt-Ca an der Triebspitze, jedoch ein signifikant niedriges Niveau an löslichem Ca^{++} als M XI.

m) NAA und BA können allein die Kallusbildung von Explantaten (2 mg Frischgewicht) aus der Kambialzone auslösen. Bei den Wuchsstoffen können einzeln oder in Kombination verschiedene Reaktionen bei den Typen verursacht werden, jedoch nicht in Beziehung mit der Wuchsstärke des ursprünglichen Baumes.

n) Es wurden günstige Kulturbedingungen zur Organogenese von Kallussen gefunden. M XI - IV und IX bilden Adventiv-Wurzeln in flüssiger M + S Nährlösung unter statischer Kultur. Die optimale Wuchsstoffkonzentration in der Nährlösung war 1 mg/lit NAA + 0,01 mg/lit BA. Dieses Optimum ist für die drei Typen gültig. Der Sämling Bittenfelder und M II bilden keine Adventiv-Wurzel bei den getesteten Bedingungen. Es ist trotz mehrerer Änderungen in dem Nährmedium noch keine Sproßbildung oder Embryogenese gelungen. Weitere Details über Anatomie des Kallus werden beschrieben.

o) Durch (Gesamtlänge 2 cm) Internodienkultur war keine Information über die Wüchsigkeit der Pflanze zu bekommen. Es ist gelungen, eine Streckung der Internodien in Vitro durch IES und GA zu induzieren. Beide Wuchsstoffe bewirken eine Streckung der Internodien hauptsächlich durch Zellstreckung in der axialen Richtung und nur sekundär durch Zellteilung.

p) Der Stärkegehalt der Kallusse verhält sich umgekehrt zur Wüchsigkeit der zugehörigen Unterlagen.

In intakten Sproßsystemen dürfte es sehr schwierig sein, die Probenahme zur Stärkebestimmung zu standardisieren. Deshalb hat die Stärkebestimmung im definierten Kallusgewebe erhebliche Vorteile.

q) Es wird abschließend vorgeschlagen, die in g) und in p) genannten Merkmale als Selektion-Test für die Wüchsigkeit bei Malus zu verwenden.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

- ABBOT, A.J.; BEST, G.R., 1970: In vitro propagation. Rep. Long Ashton Res. Stn. for 1969, 58
- ASHIRU, G.A.; CARLSON, R.F., 1968: Physiological studies of rooting cuttings of Malling-Merton 106 (MM 106) and East Malling II (EM II) apple (*Malus sylvestris* Mill) clones. Proc. Amer. Soc. hort. Sci., 92, 106-112
- AVRON, M.; NEUMANN, J., 1968: Photophosphorylation in Chloroplasts. Ann. Rev. Plant Physiol. 19, 137-166
- BEAKBANE, A.B., 1941: Anatomical studies of stems and roots of Hardy fruit trees III. The anatomical structure of some clonal and seedling apple rootstocks stem- and root-grafted with a scion variety. J. Pomol., 18, 344-367
- BEAKBANE, A.B.; THOMPSON, E.C., 1939: Anatomical studies of stems and roots hardy fruit trees II. The internal structure of some vigorous and some dwarfing apple rootstock, and the correlation of structure with vigour. J. Pomol. 17, 141-149
- BEAKBANE, A.B.; THOMPSON, E.C., 1945: Accelerating rootstock research. A. Rep. E. Malling Res. Sta. for 1944, 106-108
- BERGMANN, L., 1964: Der Einfluß von Kinetin auf die Ligninbildung und die Differenzierung in Gewebekulturen von *N. tabacum*. Planta, 62, 221-254
- BHOJWANI, S.S.; JOHRI, B.M., 1970: Cytokinin-induced shoot bud differentiation in mature endosperm of *Scurrula pulverulenta*. Z. Pflanzenphysiol., 63, 269-275
- BOLLARD, E.G.; BUTLER, G.W., 1966: Mineral nutrition of plants. Ann. Rev. Plant Physiol. 17, 77-112
- BORNKAMM, R., 1965: Die Rolle des Oxalats im Stoffwechsel höheren grüner Pflanzen. Flora, (Jena), 156, 139-171
- BROWN, S.A., 1964: Lignin and Tannin biosynthesis. In: Biochemistry of phenolic compounds, edited by J.B. HARBORNE, Acad. Press, London and New York
- BROWN, S.A., 1966: Lignins. Ann. Rev. Plant Physiol. 17, 223-244
- BUKOVAC, M.J.; WITTWER, S.H.; TUKEY, H.B., 1958: Effect of stock-scion interrelationships on the transport of P^{32} and Ca^{45} in the apple. J. hort. Sci., 38, 145-152
- BURMISTROW, A.D., 1968: Growing apples with an interstock. Sadovodstvo 4, 23-24. Hort. Abstr. 38:7017
- BUSCH, R.; WINKLER, G., 1961: Über holzanatomische Untersuchungen zur Frühselektion von Obstunterlagen. Arch. Gartenbau, 9, 278-315
- CARLSON, R.F.; ROBITAILE, H.A., 1970: A study on the dwarfing action of apple interstems. XVIII Intern. Hort. Congr. Vol. I, Abstract Tel Aviv: 340

- CASPERSON, G., 1968: Wirkung von Wuchs- und Hemmstoffen auf die Kambiumtätigkeit und Reaktionsholzbildung. *Physiol. Plant.* 21, 1312-1321
- CHRISTIANSEN, G.S.; THIMANN, K.V., 1949: Studies on the growth and inhibition of isolated plant parts. VI Nitrogen metabolism of *Pisum*. *Am. J. Bot.* 36, 821-822
- DANA, M.N.; LANTZ, H.L.; LOOMIS, W.E., 1962: Effects of interstock grafts on growth of Golden Delicious apples. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 81, 1-11
- DE HAAS, P.G.; HILDEBRANDT, W., 1967: Die Unterlagen und Baumformen des Kern- und Steinobstes. Verlag E. Ulmer Stuttgart
- DE MAGGIO, A.E., 1966: Phloem differentiation: Induced stimulation by Gibberellic acid. *Science*, 152, 770-772
- v. DENFFER, D., 1971: In: Strassburger, E., u.a.: Lehrbuch der Botanik. Fischer Verlag. Stuttgart
- DENNIS, F.G.; NITSCH, J.P., 1966: Identification of Gibberellins A₄ and A₇ in immature apple seeds. *Nature*, 211, 781-782
- DIGBY, J.; WAREING, P.F., 1966: The effect of applied growth hormones on cambial division and the differentiation of the cambial derivatives. *Ann. Bot.*, 30, 539-548
- DORFLING, K., 1964: Über das Wuchsstoff-Hemmstoffsystem von *Acer pseudoplatanus* L. II. Die Bedeutung von Inhibitor B für die korrelative Knospenhemmung und für die Regulation der Kambiumtätigkeit. *Planta*, 60, 413-433
- DRAWERT, F.; REUTHER, K.H., 1963: Phenol als Inhibitor der Huminbildung bei der Proteinhydrolyse. *Angewandte Chemie* 75, 169
- DUTCHER, R.D., 1968: Aseptic culture of axillary bud of the apple (*Pyrus malus* L.). 65th Annual Meeting, *Am. Soc. hort. Sci.* 173; in: *Hort. Science*, 3, 114
- EATON, J.K., 1950: The organic constituents of the apple tree. Preliminary work. *A. Rep. E. Malling Res. Sta. for 1949*, 93-99
- EDWARD, G.R.; JONES, O.P.; 1965: The growth of apple leaf discs. *A. Rep. E. Malling Res. Sta. for 1964*, 140-142
- ESAU, K., 1965: *Plant Anatomy* 2nd Ed. J. Wiley & Sons, Inc., New York, London, Sydney
- EVERT, R.F., 1963: Ontogeny and structure of the secondary phloem in *Pyrus malus*. *Am. J. Bot.*, 50, 8-37
- FEUCHT, W., 1967: Daten zum Stoffwechsel des Phosphors, Calciums und Stickstoffs in den Endknospen des Apfelbaumes zur Zeit der floralen Induktionsperiode. *Arch. Gartenbau*, 15, 175-182
- FEUCHT, W., 1969: Zur lokalisierten Ca-Oxalatausscheidung im Knospengewebe des Apfelbaumes während der floralen Induktion. *Arch. Gartenbau*, 17, 565-574
- FISCHER, M., 1970: Versuche zur Anwendung Wurzelanatomischer Untersuchungen als Frühselektionsmethode in der Apfelunterlagen-Züchtung. *Arch. Gartenbau* 18, 53-66

- FOX, J.E., 1969: The cytokinins. In: The physiology of plant growth and development. Edited by M. B. Wilkins, McGraw-Hill, London
- FRED, D.R.; MAHLSTEDE, J.P.; LOOMIS, W.E., 1968: Sprouting from the base of dwarf apple trees. 65th Annual Meeting Am. Soc. Hort. Sci., 179
- FREUDENBERG, K., 1968: The constitution and biosynthesis of lignin. Molecular biology, Biochemistry and Biophysics, 2. Edited by Kleinzeller A., G.F. Springer and H.G. Wittman. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York
- FRIES, K., 1968: Phenole und Wachstum. II Die Wirkung von Phenylbrenztraubensäure, Phenylmilchsäure, p-hydroxyphenylbrenztraubensäure und p-hydroxyphenylmilchsäure im Avenakoleoptilzylinder-Test. Beitr. Biol. Pflanzen, 45, 143-156
- GALSTON, A.W., 1969: Flavonoids and photomorphogenesis in peas. In: Perspective in Phytochemistry. Edited by J.H. Harborne and T. Swain. Acad. Press., London and New York
- GLIEMEROTH, K., 1962: Eine physiologische Methode zum Nachweis der Wechselbeziehungen zwischen der Unterlage und dem Reis veredelter Obstgehölze. Physiologische Probleme im Obstbau. Tagungsberichte No. 35, 29-34
- GOREN, R.; MONSELISE, S.P., 1965: Inter-relations of Hesperidin, some other natural components and certain enzyme systems in developing Shamouti orange fruits. J. hort. Sci., 40, 83-99
- GREGORY, E.G., 1957: The place of plant physiology in fruits growing. A.Rep.E.Malling Res. Sta. for 1956, 41-48
- GRINENKO, V.V.; ZAVALKO, L.B., 1967: Physiological requirements and the productivity of dwarf apple trees. Sadovodstvo, 4, 36 (1967). Hort.Abstr., 37:6325
- GROCHOWSKA, M.J., 1968: Studies on the natural growth regulators in apple leaves in relation to biennial bearing. Prace Inst. Sadown. w Skierniewicach (1966) 10, 53-92. Hort. Abstr., 38: 2629
- GRUPPE, W., 1967: Die Konzentration in der Landwirtschaft AVA Heft. Heft 25 Wiesbaden
- GUR, A.; SAMISH, R.M., 1968: The role of auxins and auxin destruction in the vigor effect induced by various apple rootstock. Beitr. Biol. Pflanzen, 45: 91-111
- HAISSIG, B.E., 1965: Organ formation in vitro as applicable to forest tree propagation. Bot. Rev., 31: 607-626
- HANCOCK, C.R.; BARLOW, H.W.B.; LACEY, H.J., 1961: The behaviour of Phloridzin in the coleoptile straight-growth test. J. Exp. Bot., 12, 401-408
- HARBORNE, J.B., 1959: The chromatography of the flavonoid pigments. J. Chromat., 2, 581-604
- HARBORNE, J.B., 1964: Biochemistry of phenolic compounds. Acad. Press London and New York

- HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E., 1968: Plant propagation. 2nd Ed. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey
- HEIDE, O.M., 1965: Interaction of temperature, auxins and kinins in the regeneration ability of Begonia leaf cuttings. *Physiol. Plantarum* 18, 891-920
- HEILENZ, S.; HÖFNER, W.; NEUMANN, K.H., 1966: Biochemisches Praktikum für Studenten der Landwirtschafts-, Hauswirtschafts- und Ernährungswissenschaften. Eigenverlag des Institut für Pflanzenernährung der Justus Liebig-Universität Gießen
- HEINICKE, A.J., 1968: Meristematic activity in periderm and vascular cambium of apple branches at different levels of oxygen. *Am.J.Bot.*, 55, 729
- HELLER, R., 1949: Sur l'emploi de papier filtre sans cendres comme support pour les cultures de tissus végétaux. *C.R. de la Soc. de Biol.*, 143, 335-337
- HILKENBÄUMER, F.; ENGEL, G., 1969: Dichtpflanzungen mit Kernobst. *Der Erwerbsobstbau*, 11, Heft 7, 121-143
- HOLMSEN, T.W., 1960: Pith development in normal and short internode seedlings of *Prunus persica* var. Lovell. *Am.J.Bot.*, 47, 173-175
- HULME, A.C., 1954: A new amino-acid in the peel of apple fruits. *Nature* 174, 1055
- HULME, A.C.; ARTHINGTON, W., 1954: Methyl Proline in young apple fruits, *Nature*, 173, 588-589
- IBRAHIM, I.M., 1968: Some interrelationships of dwarfing rootstock, levels of Boron to carbohydrates, and roots exudate activity. *Hort. Abstr.*, 38: 4968
- IBRAHIM, R.K.; TOWERS, G.H.N., 1960: The identification by chromatography of plant phenolic acids. *Arch. Biochem. Biophys.* 87, 125-128
- JACOBS, W.P., 1965: Polar transport of IAA- ¹⁴C and 2,4-D ¹⁴C through pith and vascular tissue of *Coleus* No. 5 internodes. *Plant Physiol.*, 40 (supp): xxxiii
- JENSEN, W.A., 1962: Botanical histochemistry. W.H. Freeman and Company San Francisco and London
- JEREMIAS, K., 1964: Über die Jahresperiodisch bedingten Veränderungen der Ablagerungsform der Kohlenhydrate in vegetativen Pflanzenteilen. *Botanische Studien*, Heft 15, VEB G. Fischer Verlag Jena
- JONES, O.P., 1965: Observations on the growth effects of xylem sap from apple trees. *A. Rep. E. Malling Res. Sta. for 1964*, 119-123
- JONES, O.P., 1967: Effects of Benzyl Adenine on isolated apple shoots. *Nature*, 215, 1514-1515
- JONES, O.P.; LACEY, J.J., 1968: Gibberellin like substances in the Transpiration stream of apple and pear trees. *J. Exp. Bot.*, 19, 526-531
- KAMERBEEK, G.A., 1956: Peroxydase content of dwarf types and giant types of plants. *Acta bot. Neerlandica* 5, 257-263

- KAMINSKI, W., RUDNICKI, R., PIENAZEK, J., 1971: Some growth responses of apple seedlings to Absciscic acid and growth stimulators. *Biol. Plant.*, 13, 128-132
- KATZFUSS, M., 1962: Der Mineralstoffgehalt der Rinde verschiedener Apfel- und Pfirsichunterlagen in Beziehung zu ihrer Wuchsleistung mit den Edelsorten. *Physiologische Probleme im Obstbau*, Tagungsberichte 35, 35-39
- KEFELI, V.J., 1968: Native Wachstumsinhibitoren, ihre physiologische Rolle und ihr Wirkungsmechanismus. *Wiss. Zeitschr. d. Univ. Rostock*, 17, 383-389
- KEFELI, V.J.; TURECAJA, R.H., 1967: On the mechanism of action of natural growth inhibitors. *Fiziol. Rast.*, 14, 796-803
- KNYPL, J.S., 1967: Coumarin, phosphon-D and CCC the inhibitors of chlorophyll and protein degradation in senescing leaf tissue of Kale. *Flora (A)*, 158, 230-240
- KOBEL, F., 1954: *Lehrbuch des Obstbaus*. Springer Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg
- KOBLITZ, H., 1964: Chemisch-physiologische Untersuchungen an pflanzlichen Zellwänden. *Flora* 154, 511-546
- KOHL, W., 1965: Schnelle spektralphotometrische Bestimmung kleinerer Kalziummengen in Pflanzengewebe mit Glyoxal-bis-(2-hydroxyanil). *Die Naturwissenschaften* 52, 35-36
- KRAMER, P.J.; KOZLOWSKI, Th.T., 1960: *Physiology of trees*. McGraw-Hill Book Company, Inc. New York, Toronto, London
- KÜRSCHNER, K., 1966: *Chemie des Holzes*. Technischer Verlag Herbert Gram, Berlin
- LARSON, Ph. R., 1962: Auxin gradients and the regulation of cambial activity in: *Tree growth* edited by Th. T. Kozlowski The Ronald Press Co. New York
- LETHAM, D.S., 1958: Cultivation of apple-fruit tissue in vitro. *Nature*, 182, 473-474
- LOCKARD, R.G.; LASHEEN, A.M., 1971: Effects of rootstock and length of interstem on growth of one-year-old apple plants in sand culture. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 96, 17-20
- LOEWEL, E.L.; SCHANDER, H.; HILDEBRANDT, W., 1957: Untersuchungen zur Entwicklung von Frühselektionsmethoden für die Apfelmzüchtung. I. Über Beziehungen zwischen Blatt- und Fruchtmerkmalen beim Apfel. *Der Züchter*, 4. Sonderheft 15-32
- LOOMIS, W.B.; BATTLE, J., 1966: Plant phenolic compound and the isolation of plant enzymes. *Phytochemistry*, 5, 423-438
- LUCKWILL, L.G.; WEAVER, P.; MACMILLAN, J., 1969: Gibberellins and other growth hormones in apple seeds. *J. Hort. Sci.*, 44, 413-424
- MARTIN, G.C.; STAHLY, E.A., 1967: Endogenous growth regulating factors in bark of EM IX and XVI apple trees. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.*, 91, 31-38

- MARTIN, G.C.; WILLIAMS, M.W., 1964: Quantitative Phloridzin analysis. *Analyt. Biochem.*, 8, 257-260
- MASON, A.C., 1958: The concentrations of certain nutrient elements in apple leaves taken from different positions on the shoot and at different dates through the growing season. *J. hort. Sci.* 33, 128-138
- MASUDA, Y., 1961: Effect of auxin and oxalic acid on the cell wall property of *avena coleoptile*. *Plant & Cell Physiol.*, 2, 129-138
- MAURER, E.; HILKENBÄUMER, F., 1954: Das Verhalten bekannter und neuer vegetativ vermehrter Apfelunterlagen während der Zeit des Ertragsanstieges in Schwäbisch Hall. *Z. Pflanzenzücht.*, 33, 99-118
- MENGEL, K., 1968: Ernährung und Stoffwechsel der Pflanze. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart
- MESSER, G.; LAVEE, S., 1969: Studies on vigour and dwarfism of apple trees in a in vitro tissue culture system. *J. hort. Sci.*, 44, 219-233
- MEYER, L., 1964: Der Einfluß von Unterlage und Reis auf stickstoffhaltige Inhaltsstoffe des Blutungs-saftes. *Physiologische Probleme im Obstbau, Tagungsberichte* 65, 163-167
- MILLER, C.O., 1963: Kinetin und kinetin-like compounds. *Modern methods of plant analysis*. 6, 194-202
- MILLER, S.R., 1966: Growth inhibition produced by leaf extracts from size-controlling apple rootstocks. *Canad. J. Plant Sci.* 45, 519-524 (1965), in *Hort. Abstr.*, 36:2472
- MOORITS, H., 1968: On the dynamics of the polyphenol content in the leaves of apples on different rootstocks. *Uc. Zap. tartsk. Univ.* 185, 592-598 (1966) in *Hort. Abstr.*, 38:4903
- MOSSE, B., 1952: A study of the Bark-wood relationship in apple stems. *A. Rep. E. Malling Res. Sta.* for 1951, 70-75
- MOSSE, B., 1953: The origin and structure of bridge tissues in ring-grafted apple stems. *J. hort. Sci.* 28, 41-48
- MÜLLER, H.; BORCK, B., 1953: Zur Frage der Erhöhung der Standfestigkeit von schwachwachsenden Apfelniederstämmen durch Verwendung starkwachsender Unterlagen und schwachwachsenden Zwischenveredlungen. *Arch. Gartenbau*, 1, 421-427
- NEISH, A.C., 1965: Coumarins, Phenylpropanes, and Lignin in: *Plant biochemistry* edited by J. Bonner and J. E. Varner, Acad. Press, New York and London
- NEUMANN, K.H., 1965: Wurzelbildung und Nukleinsäuregehalt bei Phloemgewebekulturen der Karottenwurzel auf synthetischen Nährmedien verschiedener Hormonkombinationen. In: *Les Congrès et Colloques de l'Université de Liege*, Vol. 38. *Les Phytohormones et l'organogenese*. 95-102
- NEUMANN, K.H.; STEWARD, F.C., 1968: Investigations on the growth and metabolism of cultured explants of *Daucus carota*. *Planta*, 81, 333-350

- NITSCH, K.H., 1967: Towards a biochemistry of flowering and fruiting: Contribution of the in vitro technique. Proc. XVII Int. Hort. Congress Vol III, 291-308
- NITSCH, J.P.; NITSCH, C., 1956: Studies on the growth of coleoptile and first internode sections. A new sensitive straight-growth test for auxins. Plant Phys. 31, 94-111
- NITSCH, J.P.; NITSCH, C., 1959: Synergie d'action entre le derives de l'acide chlorogenique et l'acide chlorogenique et l'acide 3-indolylacetique. Bull. de la Soc. bot. Fr. 106, 414-417
- NYBOM, N., 1962: Physiologische Frühelektionsmethoden als Hilfsmittel in der Obstzüchtung. Physiologische Probleme im Obstbau, Tagungsberichte Nr. 35, 123-132
- PACKER, L.; MURAKAMI, S.; MEHARD, W., 1970: Ion transport in chloroplasts and plant mitochondria. Ann. Rev. Plant Physiol. 21, 271-304
- PANCZEL, M.; EIFERT, J., 1960: Die Bestimmung des Zucker- und Stärkegehaltes der Weinrebe mittels Anthron-reagens. Mitt. Klosterneuburg, Rebe und Wein 10, 102-110
- PARISH, R.W., 1969: The effects of various aromatic compounds on indoleacetic acid oxidase before and after treatment with peroxidase and hydrogen peroxide. Z. Pflanzenphysiol., 60, 296-306
- PARRY, M.S.; ROGERS, W.S., 1968: Dwarfing interstocks: their effect on the field performance and anchorage of apple trees. J. hort. Sci., 43, 133-146
- PHILLIPS, I.D.J.; JONES, R.L., 1964: Gibberellin-like activity in bleeding-sap of root systems of Helianthus annuus detected by a new dwarf pea epicotyl assay and other methods. Planta, 63, 269-278
- PIENAZEK, J., 1969: The growth in vitro of isolated apple-shoot tips from young seedlings on media containing growth regulators. Bull. Acad. polon. Sci., Sér. Sci. biol., 16, 179-183 (1968) Hort. Abstr. 39:6312
- PIENAZEK, J.; SANIEWSKI, M., 1968: Hormonal control of cambial activity and xylem differentiation in apple shoots. Acta Agrobotanica, 21, 113-129
- PIENAZEK, J.; SANIEWSKI, M.; JANKIEWICZ, L.S., 1970: The effect of growth regulators on cambial activity in apple shoots. Physiologische Probleme im Obstbau. Tagungsberichte, 29, 61-71
- PRESTON, A.P., 1958 a: Apple rootstock studies: Thirty-five years' results with Lane's Prince Albert on clonal rootstocks. J. hort. Sci., 33, 29-38
- PRESTON, A.P., 1958 b: Apple rootstock studies: Thirty-five years' results with Cox's Orange Pippin on clonal rootstocks. J. hort. Sci., 33, 194-201
- PRESTON, A.P., 1959 a: Thirty-five years' results with some Malling clonal apple rootstocks. A. Rep. E. Malling Res. Sta. for 1958, 148-150

- PRESTON, A.P., 1959 b: Apple rootstock studies: Growth and cropping of Cox's Orange Pippin on some Mallings and Mallings-Merton rootstocks. A. Rep. E. Malling Res. Sta. for 1958, 47-52
- PRESTON, A.P., 1959 c: Apple rootstock studies: Thirty-five years' results with Worcester Pearmain on clonal rootstocks. J. hort. Scie. 34, 32-38
- PRIESTLEY, C.A., 1959: Seasonal changes in the carbohydrate resources of some six-year-old apple trees. A. Rep. E. Malling Res. Sta. for 1958, 70-77
- RAO, V.Y.; BERRY, W.E., 1940: The carbohydrate relations of a single scion variety grafted on Malling rootstocks IX and XIII. J. Pomol., 18, 193-225
- RAY, P.M., 1953: Destruction of auxin. Ann. Rev. Plant Physiol., 2, 81-118
- RENNER, E., 1970: Mathematisch-statistische Methoden in der praktischen Anwendung. Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg
- REINERT, J., 1968: Morphogenese in Gewebe- und Zellkulturen. Die Naturwissenschaften, 55, 170-175
- REINERT, J.; WHITE, P.R., 1956: The cultivation in vitro of tumor tissues and normal tissues of Picea glauca. Physiol. Plant., 9, 177-189
- ROBERTS, A.N.; BLANEY, L.T., 1967: Qualitative, quantitative, and positional aspects of interstock influence on growth and flowering of the apple. Proc. Am. Hort. Sci., 91, 39-50
- ROGERS, W.S.; BEAKBAEN, A.B., 1957: Stock and scion relations. Ann. Rev. Plant Physiol., 8, 217-236
- ROGERS, W.S., 1958: Malling 26, a new semi-dwarfing apple rootstock. A. Rep. E. Malling Res. Sta. for 1957, 48-49
- ROMBERGER, J.A.; TABOR, C.A., 1971: The Picea abies shoot apical meristem in culture. I Agar and autoclaving effects. Am. J. Bot., 58, 131-140
- RUČK, H.C.; BOLAS, B.D., 1956: Studies in the comparative physiology of apple rootstocks. I The effect of N on the growth and assimilation of Malling apples rootstocks. Ann. Bot., 20, 57-68
- RYUGO, K., 1962: The accumulation of Lignin and concurrent changes in the apparent density of the cell wall in the peach endocarp. Proc. An. Soc. Hort. Sci. 80, 197-203
- RYUGO, K., 1969: Net assimilation rate heat of combustion and composition of sweet cherry and persimmon seedlings in comparison to other species. J. hort. Sci. 44, 195-200
- SAAD, A.T.; BOONE, D.M., 1964: Nutritional and temperature studies on apple callus tissue in vitro. Plant Physiol., 39 (Suppl. xi)
- SACHS, R.M., 1965: Stem elongation. Ann. Rev. Plant Physiol., 16, 73-96
- SARAPUU, L.P., 1965: The physiological effect of Phloridzin as a β -inhibitor during growth and dormancy in the apple tree. Fiziol. Rast. 12:134-145, 1965 in Hort. Abstr. 35:7203

- SARAPUU, L.P.; VARDJA, E., 1968: Diurnal changes in the metabolic products of Phloridzin in one-year old shoot of apple in relation to the preparation of trees for dormancy. *Uc. zap. tartusk. Univ.*, 18, 84-94 (1966) in *Hort. Abstr.*, 38: 5011
- SAUTER, J.J., 1966: Untersuchungen zur Physiologie der Pappelholzstrahlen II Jahresperiodische Änderungen der Phosphataseaktivität in Holzstrahlparenchym und ihre mögliche Bedeutung für den Kohlenhydrat Stoffwechsel und den aktiven Assimilattransport. *Z. Pflanzenphysiol.*, 55, 349-362
- SAUTER, J.J., 1967: Der Einfluß verschiedener Temperaturen auf die Reservestärke in parenchymatischen Geweben von Baumsproßachsen. *Z. Pflanzenphysiol.*, 56, 340-352
- SCHANDER, H.V., 1958: id. II Über Frühselektion auf Resistenz gegen Apfelmehltau (*Podosphaera leucotricha* Solm) über die Anfälligkeit von Apfelsorten und über die Vererbung der Anfälligkeit. *Der Züchter*, 28, 105-132
- SCHEIDECKER, D., 1968: Untersuchung über einem herbeigeführten Calciummangel, welcher bei der auf verhältnismäßig Kalireichen, aber kalkarmen Standorten kultivierten Tomate "Groseille rouge" beobachtet wurde. *Kali Briefe* 26. Folge Fachgebiet 3
- SHELDRAKE, A.R.; NORTHCOTE, D.H., 1968: Some constituents of xylem sap and their possible relation to xylem differentiation. *J. Exp. Bot.*, 19, 681-689
- SHELDRAKE, A.R.; NORTHCOTE, D.H., 1968: The production of auxin by autolysing tissues. *Planta*, 80, 227-236
- SHELDRAKE, A.R.; NORTHCOTE, D.H., 1968: The production of auxin by tobacco internode tissues. *New Phytol* 67, 1-13
- SCHRAUDOLF, H., 1969: Wachstum. *Fortschritte der Botanik*, 31, 123-143
- STENLID, G., 1968: On the Physiological effects of phloridzin, phloretin and some related substances upon higher plants. *Physiol. Plant.* 21, 882-894
- STEWART, F.C., 1969: *Plant Physiology* VB. Academic Press. New York and London
- STEWART, F.C.; SHANTZ, E.M., 1956: The chemical induction of growth in plant tissue culture I Methods of Tissue Culture and analysis of Growth. In: *The chemistry and mode of action of plant growth substances*. Edited by R.L. Wain, 165-186
- STEWART, F.C.; DURZAN, D.J., 1965: Metabolism of nitrogenous compounds. In *Plant Physiology* IV A Edited by F.C. Stewart 379-679
- STONIER, T.; SINGER, R.W.; Yang, H, 1970: Studies on auxin protectors IX. Inactivation of certain protectors by polyphenoloxidase. *Plant Physiol.* 46, 454-7
- STOUTEMYER, V.T.; BRITT, O.K., 1965: The behaviour of tissue cultures from English and algerian Ivy in different growth phases. *Amer. J. Bot.*, 52, 805-810

- STREET, H.E., 1969: Growth in organized and unorganized systems. In: Plant Physiology VB. Edited by F.C. Steward Academic Press. New York and London, 3-324
- SUNDERLAND, N., 1968: Suspension culture of higher plants. John Innes Institute. Fifty Ninth Annual Report. 24-25
- SUSSEX, I.M.; CLUTTER, M.E., 1959: Seasonal growth periodicity of tissue explants from woody perennial plants in vitro. Science, 129, 836-837
- TAPER, C.D.; LING, R.S., 1961: Estimation of apple rootstock vigor by the electrical resistance of living shoots. Can. J. Bot., 39, 1585-1589
- TAPER, C.D., LING, R.S.; HUTCHINSON, A., 1962: Note on the Ethanol conductivity method for the estimation of apple rootstock vigor. Can. J. Plant Sci., 42, 527-529
- TAPER, C.D.; LING, R.S.; HUTCHINSON, A., 1963: Note on the estimation of apple rootstock vigor by the electrical conductivity of water extract. Canad. J. Plant Sci., 43, 228-230
- THIMANN, K.V., 1969: The auxins. In: The physiology of plant growth and development edited by M.B. Wilkins pp. 3-45
- THORPE, T.A.; MURASHIGE, T., 1968: Starch accumulation in shoot-forming tobacco callus cultures. Science 160, 421-422
- TOMASZEWSKI, M., 1962: Die physiologische Funktion des Phenol-Phenolase-Systems in Obstbäumen. Physiologische Probleme im Obstbau. Tagungsberichte, 35, 9-16
- TOMASZEWSKI, M., 1964: The mechanism of synergistic effects between auxin and some natural phenolic substances. In Régulateurs naturels de la Croissance Végétale Gif. s/Yvette, 335-351
- TOMASZEWSKI, M.; THIMANN, K.V., 1966: Interactions of phenolic acids, metallic ions and chelating agents on auxin induced growth. Plant physiol., 41, 1443-1454
- TORREY, J.G., 1966: The initiation of organized development in plants. Advances in morphogenesis, 5, 39-91
- TRIPPI, V.S., 1963: Studies on ontogeny and senility in plants II. Seasonal variation in proliferative capacity in vitro of tissues from branches from juvenile and adult zones of Aesculus hippocastanum and Castanea vulgaris. Phytol., 20, 146-152
- TUKEY, H.B., 1964: Dwarfed fruit trees. The Macmillan Co. New York, Collier-Macmillan Limited, London
- TYDEMAN, H.M., 1953: A description and classification of the Malling-Merton and Malling XXV apple rootstocks. A. Rep. E. Malling Res. Sta. for 1952, 55-63
- TYDEMAN, H.M., 1955: Descriptions of the Malling apple rootstocks. A. Pys. E. Malling Res. Sta. for 1954, 64-66

- VASIL, I.K.; HILDEBRANDT, A.P., 1966 a: Variations of morphogenetic behavior in plant tissue cultures. I *Cichorium endivia*. Am. J. Bot. 53: 860-869
- VASIL, I.K.; HILDEBRANDT, A.P., 1966 b: Variations of morphogenetic behavior in plant tissue cultures. II *Petiozelinum hortense*. Am. J. Bot., 53, 869-874
- VENVERLOO, C.J., 1969: The lignin of *Populus nigra* L. CV. *Italica*. A comparative study of the lignified structures in tissue cultures and the tissues of the tree. Acta Bot. Neerl., 18, 241-314
- WAREING, P.F., 1958: Interaction between Indole-acetic acid and Gibberellic acid in cambial activity. Nature, 181, 1744-1745
- WAREING, P.F.; HANNEY, C.E.; DIGBY, J., 1964: The role of endogenous hormones in cambial activity and xylem differentiation. In: The formation of wood in forest trees, edited by M.H. Zimmermann. Acad., Press. New York, London
- WARNE, L.G.G.; WALLACE, T., 1935: The composition of the terminal shoots and fruits of two varieties of apple in relation to rootstock effects. J. hort. Scie., 13, 1-31
- WATTENDORF, J., 1969: Feinbau und Entwicklung der verkorkten Calciumoxalat Kristallzellen in der Rinde von *Larix decidua* Mill. Z. Pflanzenphysiol., 60, 307-347
- WETMORE, R.H.; RIER, J.P., 1965: Experimental induction of vascular tissues in callus of angiosperms. Am. J. Bot. 50, 418-430
- WHEELER, A.W.; KING, H.G.C., 1968: Conversion of tryptophan to auxin by phenolic esters from leaves of dwarf french bean (*Phaeolus vulg.*). Phytochemistry, 7, 1057-1063
- WHITE, Ph. R., 1954: The cultivation of animal and plant cells. The Ronald Press Co. New York
- WHITFIELD, A.B., 1964: The effects of stock and scion on the mineral composition of apple leaves. A. Rep. E. Malling 1963, 107-109
- WILCOX, H., 1962: Cambial growth characteristics. In: Tree Growth, edited by Th. T. Kozlowski. The Ronald Press Co., New York.
- WILSON, R.E.; RICE, E.L., 1968: Allelopathy as expressed by *Helianthus annuus* and its role in old-field succession. Bull. Torrey Botan. Club 95, 432-448
- WINTON, L.L., 1968 a: The rooting of liquid-growth Aspen callus. Am. J. Bot., 55, 159-167
- WINTON, L.L., 1968 b: Plantlets from Aspen tissue culture. Science 160, 1234-1235
- WINTON, L.L., 1970: Shoot and tree production from Aspen tissue cultures. Amer. J. Bot. 57, 904-909
- WOLTER, K.E., 1968: Root and shoot initiation in Aspen callus cultures. Nature, 219, 509-510

- WOLTER, K.R.; SKOOG, F., 1966: Nutritional requirements of *Fraxinus* callus cultures. *Am. J. Bot.*, 53, 263-269
- ZENK, M.H.; MÜLLER, G., 1963: In vivo destruction of exogenously applied indolyl-3 acetic acid as influenced by naturally occurring phenolic acids. *Nature*, 200, 761-763

L e b e n s l a u f

Im Oktober 1940 wurde ich als Sohn von Julio Saavedra und seiner Ehefrau María Rebeca geb. Opazo, in der Hauptstadt Santiago/Chile geboren.

Nach 6 Jahren Volksschule trat ich 1952 in das humanistische Gymnasium ein. Im Jahre 1955 wechselte ich auf die Militär-Schule über, wo ich mein Gymnasium beendet habe. Im Juli 1958 legte ich das Abitur mit dem Hauptfach Chemie ab.

Im August 1958 immatrikulierte ich mich an der Landwirtschaftlichen Fakultät der Universidad de Chile in Santiago. Im Dezember 1963 legte ich hier das Diplomexamen ab.

Seit März 1964 arbeitete ich in einer halb-staatlichen Organisation zur landwirtschaftlichen Produktionssteigerung (CORFO).

Ab April 1966 war ich als wissenschaftlicher Assistent am Institut für Obstbau der Landwirtschaftlichen Fakultät der Universidad de Chile tätig.

Im April 1968 begann ich mit einem zusätzlichen Studium über Pflanzenphysiologie und Obstbau an der Justus Liebig Universität in Giessen. Während dieser Zeit konnte ich die vorliegende Dissertation anfertigen.

